

Experimentelle Untersuchungen
über die Wirkung einiger Appetitzügler
und Biguanide auf den Stoffwechsel
des Fettgewebes

KLAUS REBHAN

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554020_0063

AUS DER II. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. Dr. Gustav Bodechtel

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNG EINIGER
APPETITZÜGLER UND BIGUANIDE AUF DEN STOFFWECHSEL DES
FETTGEWEBES

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
K l a u s R e b h a n
aus München

1967

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Kurt Schwarz
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. Gustav Bodechtel
Dekan: Prof. Dr. M. Kiese
Tag der mündlichen Prüfung: 31.7.1967



Herrn Prof. Dr. med. K. Schwarz danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und seine wertvolle Unterstützung.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. P. Bottermann, der mir sehr oft mit Rat und Tat zur Seite stand.

Für gute Zusammenarbeit und freundliche Hilfe danke ich den Damen Fräulein Zech und Fräulein Schwarz.

<u>INHALT</u>	Seite
EINLEITUNG	1
CHEMIE der verwendeten Substanzen	5
VERSUCHSANORDNUNG	6
MESSMETHODEN	
1. Bestimmung der Nichtveresterten Fettsäuren	7
2. Bestimmung des Glyzerins	8
3. Bestimmung des Netto-Gasaustausches	10
LISTE DER ABKÜRZUNGEN	11
DIE VERWENDETEN HORMONE	11
ERGEBNISSE	
Die Wirkung der Appetitzügler auf die Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren (NFS) und Glyzerin aus dem isolierten Fettgewebe	
1. Preludin	12
2. F - 396	12
3. H - 475	19
4. H - 610	19
5. H - 683	19
6. H - 810	22
7. H - 1000	22
Die Wirkung der Biguanide auf die Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren (NFS) und Glyzerin aus dem isolierten Fettgewebe	
8. Phenformin (DBI)	22
9. 1-Butyl-Biguanid (DBV)	33
DISKUSSION	48
ZUSAMMENFASSUNG	59
LITERATURVERZEICHNIS	61
LEBENS LAUF	71

EINLEITUNG

Dieser Arbeit liegen Versuche zugrunde, die sich mit der Wirkung von einigen anorexigenen Substanzen (Appetitzüglern) und Biguaniden auf den Stoffwechsel des Fettgewebes befassen. Zweck der Untersuchung war es, einen Überblick über den möglichen Einfluß dieser Substanzen auf den Fettstoffwechsel zu gewinnen.

Die vorliegenden Ergebnisse beruhen auf wenigen Versuchen in der jeweiligen Versuchsreihe, z. T. handelt es sich um Einzelversuche, die rein orientierenden Charakter haben, weshalb eine exakte Signifikanzberechnung unterbleiben mußte.

Für die Versuche mit **A p p e t i t z ü g l e r n** standen einige Substanzen der Firma Merck zur Verfügung, deren genauerer Wirkungsmechanismus geklärt werden sollte, außerdem die Substanz Phenmetrazin (Handelsname: Preludin) sowie F- 396 der Firma Nordmark.

Untersuchungen mit Phenmetrazin an lebenden Ratten wurden von BEHREND und DEININGER (1), OPITZ und LOESER (2), HOHN (3) und JEANRENAUD (4) veröffentlicht. Sie zeigten unter anderem, daß Phenmetrazin (neben anderen Appetitzüglern) bei den Versuchstieren einen deutlichen Schwund des Nebenhodenfettanhanges hervorriefen. Man folgerte aus diesen Befunden eine eventuell spezifisch lipolytische Wirkung der verwandten Appetitzügler. Sie könnten in einer zu klärenden Weise potenzierend auf die lipolytische Aktivität der Fettzelle, also das Lipasensystem, einwirken.

Wie von LYNN (69), HOLLENBERG (81), RIZAK (82), MOSINGER (83), VAUGHAN (85) und MASHBURN (92) veröffentlicht, finden sich im Fettgewebe mehrere verschiedene Lipasen, deren Wirkung summarisch darin besteht, die im Fettgewebe befindlichen Triglyzeride über die Di- und

Monoglyzeride zu Nichtveresterten Fettsäuren (NFS) und Glyzerin zu spalten. Die NFS werden nach Austritt aus der Zelle an das Plasma-Albumin gebunden, während das Glyzerin ohne Bindung ins Plasma gelangt.

Als Endprodukte der Lipolyse treten also NFS und Glyzerin aus der Fettzelle aus und können im Umgebungsmedium in der später unter Methodik angegebenen Weise quantitativ bestimmt werden.

Während die an Albumin gebundenen NFS in einem bestimmten Gleichgewicht wieder in die Fettzelle einströmen können, zu neuer Lipogenese mit aus dem Glukoseabbau stammendem Glyzerophosphat, ist das Glyzerin infolge Abspaltung seines Phosphatrestes für diesen Vorgang nicht mehr verwendbar.

Diese Stoffwechselvorgänge sind in vitro leicht zu beobachten. Deshalb erscheint eine Klärung der Frage, ob die Appetitzügler direkt auf die Fettzelle einwirken im Sinne einer Steigerung der Lipolyse, oder ob dieser Effekt indirekt über eine vermehrte Freisetzung von Adrenalin, Noradrenalin und der damit zusammenhängenden Enzymsysteme zu verstehen ist, am ehesten durch die Prüfung ihrer Wirkung auf die Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe zu beurteilen.

Schon seit längerer Zeit dienen *B i g u a n i d e* wie Buformin und Phenformin der Behandlung des Diabetes mellitus. Die pharmakologische Wirkung dieser Substanzen wurde eingehend geprüft und von PROSKE et.al. (5), LIPPMANN (6) und SÖLING et.al. (7) ausführlich beschrieben. Hinsichtlich des Wirkungsmechanismus bestand bisher keine Übereinstimmung. Frühere Hypothesen von WICK (8), STEINER (9) und KRUGER (10), die den Biguaniden eine Wirkung in Richtung einer vermehrten Glykolyse zuschrieben, sind heute nicht mehr haltbar. (7), MEHNERT (11) (11a) (11b))

Dieser Annahme widerspricht die klinische Erfahrung, daß

bei der Therapie mit Biguaniden keine vermehrte renale Ausscheidung von Milchsäure auftritt (11), und der Laktat/Pyruvat -Quotient im Blut unverändert bleibt.(12). Ein vermehrter anaerober Stoffwechsel würde jedoch eine Zunahme dieser Parameter bedingen, da dabei das Redoxgleichgewicht zwischen Laktat und Pyruvat zugunsten des Pyruvats verschoben wird. Selbst unter extremsten Bedingungen, wie sie bei jungen Diabetikern, die Muskelarbeit leisten, vorliegen, bewirkt Biguanidapplikation über die physiologisch vermehrte Milchsäurebildung hinaus keine weitere Erhöhung des Blutlaktats.

Aus neueren Untersuchungen imponiert als wesentliches Ergebnis, daß die Biguanide im Gegensatz zum Insulin nur im Muskelgewebe, nicht aber im Fettgewebe wirksam sind. Verschiedene Autoren wie DAWECKE (13) und TRANQUADA (14) prüften in Versuchsreihen den Effekt der Biguanide auf das isolierte Fettgewebe: Die Glukoseaufnahme von epididymalem Rattenfettgewebe wird durch Biguanidkonzentrationen, die den therapeutischen Blutspiegeln entsprechen, nicht gesteigert. Bei Verwendung höherer Konzentrationen wurde je nach Versuchsbedingungen eine vermehrte bis unveränderte oder verminderte Glukoseaufnahme beobachtet. Im Gegensatz zur Insulinwirkung wird durch Biguanide die Lipogenese im Fettgewebe, gemessen an der Aufnahme von NPS aus dem Umgebungsmedium, nicht vermehrt. (L'AGE, 15).

Auch im Hinblick auf die Lipolyse unterscheidet sich die Wirkung der Biguanide von der des Insulins. Während nämlich die Inkubation von Fettgewebe zusammen mit Insulin zu einer Hemmung der Fettspaltung führt, sollen nach L'AGE (15) die Biguanide in vitro ohne Einfluß auf die Lipolyse sein, in vivo sogar zu einer Fettmobilisation führen. (16).

Nach neueren Untersuchungen beruht die Biguanidwirkung auf das Muskelgewebe auf einer Erhöhung der Zellpermeabilität für Glukose -DITSCHUNEIT (17)- also einer Blutzuckersenkung.

Nach WHICHELOW (18) erniedrigt Biguanid ähnlich dem Insulin beim Diabetiker die pathologisch hohe Glukoseschwelle, zeigt indes beim Stoffwechselgesunden keinen vergleichbaren Effekt.

Nach CREUTZFELD (19), LIPPMANN und LAWECKI (20) und BUTTERFIELD (21) beruht die Biguanidwirkung in diesem Falle wenigstens zum Teil auf einer Potenzierung des noch vorhandenen Insulineffektes.

Untersuchungen von STUHLFAUTH und MEHNERT (22, 23) erbrachten, daß Biguanide keine vermehrte Ausschüttung von Insulin aus den Beta-Zellen des Pankreas bewirken.

Bekanntlich reagiert der Altersdiabetiker auf Glukosebelastung mit einem gegenüber dem Stoffwechselgesunden stärkeren und länger anhaltenden Anstieg der Insulinkonzentration im Plasma. Da gleichzeitig die Serumkonzentration an NFS erhöht ist, wird die Wirkung des Insulins auf die Muskulatur gehemmt und auf das Fettgewebe abgelenkt, wo sie im Sinne der Lipogenese, einem therapeutisch unerwünschten Effekt, wirkt. v. BRAND (24) gelang es im Tierversuch, mit Biguaniden diese Fettsynthese zu hemmen.

GRODSKY (25) erzielte durch Gabe von Glukose und Biguanid beim Diabetiker eine Senkung des pathologisch hohen Insulinspiegels im Serum und damit eine Zurückdrängung der Lipogenese, so, wie es sich aus dem klinischen Befund ergibt, daß übergewichtige Diabetiker durch Biguanide an Gewicht verlieren. (SADOW (26), SCHWARZ et.al. (27), PATEL (28), MOSS (29), PETERSEN (30), WILLIAMS (31), WELLER (32) und CLARKE (33).

Dabei wird die Lipolyse gehemmt und gleichzeitig die Fettmobilisation gesteigert. (16).

Nach SADOW (26) sind deshalb die Biguanide im eigentlichen Sinne die physiologischen Antidiabetika.

Einen interessanten Aspekt für die Diabetestherapie eröffnen die von GRODSKY (25) und BRADLEY (34) gewonnenen

Ergebnisse von Versuchen mit Prädiabetikern:

Diese weisen nach Glukosebelastung einen erhöhten Plasmaspiegel an NFS und Insulin auf. Dieser pathologisch erhöhte Insulinspiegel kann durch Biguanide gesenkt werden!

Ein Teil der vorliegenden Arbeit dient dem Zweck, an Hand von in-vitro-Versuchen am isolierten Rattenfettgewebe zu klären, wie der anorexigene Effekt der Biguanide, der beim Altersdiabetiker (25) und in Tierversuchen (24) beobachtet wurde, zustande kommt.

CHEMIE der verwendeten Substanzen:

Appetitzügler:

- Preludin = Phenmetracin·HCl = 2, Phenyl-3, methylmorpholinhydrochlorid
- F - 396 = 2, Phenyl-3, methyl-butylamin (3) hydrogentartrat
- H - 475 = 2, Phenyl-3, amino-bicyclo (2,2,1)-heptanhydrochlorid
- H - 610 = 2, Phenyl-3, amino-bicyclo (2,2,2)-octanhydrochlorid
- H - 683 = 2, Phenyl-3, pyrrolidino-bicyclo (2,2,1)-heptanhydrochlorid
- H - 810 = 2, Phenyl-3((N,N,-bis-(-hydroxyäthyl) amino))- bicyclo (2,2,1)-heptanhydrochlorid
- H - 1000 = 2, Phenyl-3, (N-äthyl-N-allylamino)-bicyclo (2,2,1)-heptan

Biguanide:

- DBI = Phenforminhydrochlorid = N - -Phenyl-äthylformamidinyl-amino-harnstoff-hydrochlorid
- DBV = 1-Butyl-Biguanid = Buformin

VERSUCHSANORDNUNG

In in-vitro-Versuchen wurde das Nebenhodenfett junger männlicher Ratten (Lebendgewicht 110 - 160 g) in physiologischem Puffermedium (Krebs-Ringer-Bicarbonatlösung mit Albumin- und Glukosezusatz - s.u.) bei 37°C im Wasserbad mit den zu prüfenden Substanzen inkubiert. Es handelte sich um Ratten vom Stamm Sprague-Dawley, die mit Altromin nach Belieben gefüttert wurden.

Jeweils sechs Ratten wurden durch Dekapitierung getötet, ausgeblutet und die Nebenhodenfettanhänge herauspräpariert. Die Fettläppchen wurden in je sechs einzelne, ungefähr gleichschwere Stückchen zerschnitten und so in die Versuchsgefäße verteilt, daß am Ende von jedem Fettläppchen ein sechstel Teil in jedem einzelnen Versuchsgefäß enthalten war. So wurden gewichtsmäßig ungefähr vergleichbare Bedingungen geschaffen und Fermentaktivitätsunterschiede der einzelnen Läppchenpartien ausgeglichen.

Jedes Gefäß enthielt 12 Teilchen mit einem Gesamtgewicht zwischen 250 und 400 Gramm, je nach Versuchstag.

Ein siebtes Versuchsgefäß lief als Leer- und Kontrollwert mit.

Zusammensetzung des Puffers:

500	Volumteile	4,5 %igen NaCl
20	Volumteile	5,75%igen KCl
5	Volumteile	6,75%igen KH_2SO_4
5	Volumteile	19,1 %igen MgSO_4

Verdünnung mit Aqua destillata auf 1 : 5. 16 % wurden davon durch 1,3 %iges NaHCO_3 ersetzt. Nach fünfminütiger Gasung mit Carbogengas wurde der Puffer elektrometrisch auf einen pH-Wert von 7,5 eingestellt (mit HCl) und 2 g% Humanalbumin (Boehringer: Charge 2617) zusammen mit 300 mg% wasserfreier Glukose eingewogen.

In jedes der sieben Versuchsgefäße (verschließbare, eingeschliffene Erlmeyer-Kölbchen) wurden 6 ml Puffer einpipettiert.

Ein Gefäß lief als Pufferleerwert, ein weiteres als Fettgewebsleerwert mit.

Die Inkubationsdauer im auf 37°C erwärmten Wasserbad betrug 2 Stunden, die Schüttelfrequenz ca. 100 Schüttelbewegungen / Minute.

Da für einige der Versuche eine eventuell zu erwartende Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren bzw. Glyzerin mit den unten beschriebenen Methoden nicht zu beobachten war, wurden in diesen Fällen den Versuchsgefäßen Substanzen wie Adrenalin, Noradrenalin, ACTH und STH zugegeben, die in unten geschilderter Weise diese Freisetzung stimulieren. Veränderungen, die bei den so modifizierten Versuchen auftraten, konnten dann gut mit den verwandten Methoden erfaßt und bestimmt werden.

MESSMETHODEN

Bestimmung der Nichtveresterten Fettsäuren (NFS)

(Nach DOLE und MEINERTZ - 36)

1. Prinzip: Bei der Lipolyse treten die NFS aus der Fettzelle ins Puffermedium über, wo sie an das vorhandene Albumin gebunden werden. Mittels einer Extraktionslösung wird aus dem Puffergemisch nach der Inkubation mit den zu prüfenden Substanzen das Eiweiß ausgefällt und die dadurch freiwerdenden NFS in Heptan in Lösung gebracht. Die Heptanfraktion wird sodann mit NaOH titrimetrisch bestimmt.

2. Ausführung: Nach Ablauf der Inkubationszeit werden aus jedem Versuchsgefäß 2 ml Pufferlösung abpipettiert und in je ein 50ml-Erlmeyer-Kölbchen eingebracht. Dazu gibt man je Kölbchen 10 ml Extraktionslösung:

0,1 Volumteil 1-n-H₂SO₄

1,0 Volumteil Heptan

4,0 Volumteile Isopropylalkohol

schüttelt das ganze und läßt es sodann fünf Minuten bei Zimmertemperatur stehen.

Danach werden je 4 ml Aqua dest. und 6 ml Heptan zupipettiert und nochmals geschüttelt. Nach weiteren fünf

Minuten hat sich die Heptanphase mit den NFS von der Alkoholphase mit dem ausgefällten Eiweiß getrennt. Zur Doppelbestimmung werden zweimal je 3 ml der Heptanphase abgezogen und in 15 ml-Zentrifugengläser einpipettiert. Pro Glas gibt man sodann 1 ml Thymolblau - Indikatorlösung zu, die im sauren Bereich eine Gelbfärbung aufweist.

Die NFS werden mit 0,018-n-NaOH unter Begasung mit Stickstoff vor einer beleuchteten Mattscheibe bis zum Farbumschlag von Gelb nach Hellgrün titriert. Die Bestimmung des Umschlages erfolgt nach Entmischung der beiden Phasen (Heptanphase und Indikatorlösung).

Als Berechnungsgrundlage wird eine Palmitinsäurestandardlösung (50 mg Palmitinsäure/Liter Heptan) bei jeder Versuchsreihe mitbestimmt.

Die Konzentration der NFS errechnet sich aus folgender Formel:

$$\text{NFS} = 585 \cdot \frac{\text{Titrationwert d. Probe} - \text{Tit.wert Leerwert}}{\text{Titrationwert d. Palmitinsäurelg.}}$$

Titrationwert: ...ml 0,018-n-NaOH

$$\text{NFS} = (\mu\text{Val/l}) = \left(\frac{\text{Mikroval pro Liter}}{585 \text{ ist das Mol.gewicht d. Palmit.säure}} \right)$$

Bezieht man die Werte auf 1 Gramm Fett bei zweistündiger Begasung, so ergibt sich folgende Konzentrationsbezeichnung:

$$\underline{\text{NFS}} = \left(\frac{\mu\text{Val/g.2h}}{585} \right) = (\text{Mikroval pro Gramm nach 2 Std.})$$

Fehler der Meßmethodik:

Mittelwert einer 10-Versuchsreihe:

$$\begin{aligned} M &= 600 \mu\text{Val/l} \\ &= \pm 35,6 \mu\text{Val/l} = \pm 5,95 \% \end{aligned}$$

Bestimmung des Glyzerins - (nach KREUTZ, 38)

1. Prinzip: Glyzerin wird mittels Glyzerokinase und ATP (Adenosintriphosphat) zu Glyzerophosphat phosphoryliert nach folgenden Reaktionen:

I. Glyzerin + ATP ===== Glyzerin-1-phosphat + ADP;

Das entstandene ADP wird mit Phosphoenolpyruvat-Na (PEP-Na) unter Wirkung der Pyruvatkinase (PK) in ATP zurückgeführt:

II. ADP + PEP-Na ===== ATP + Pyruvat;

Das entstandene Pyruvat wird mit Diphosphopyridin-nukleotid-hydrogenase (DPNH -reduziert) unter Lactatdehydrogenasewirkung (LDH) in Milchsäure überführt; wobei DPNH zu DPN^+ oxydiert wird:

III. Pyruvat + DPNH + H^+ ===== Laktat + DPN^+

An dieser Stelle tritt eine photometrisch meßbare Farbänderung ein.

Die bei dieser Reaktion umgesetzte DPNH-Menge ist der Glyzerinmenge äquivalent. Ihr meßbarer quantitativer Schwund, wie er aus der Summenformel aus I - III hervorgeht:

IV. Glyzerin + PEP-Na + DPNH + H^+ === L(-)Glyzerin-1-phosphat + Laktat + DPN^+

ist Meßgröße.

Sie wird mit einem Photometer (Eppendorf) abgelesen.

2. Ausführung:

0,5 ml Puffersubstrat werden zusammen mit

2,3 ml Glyzerinbestimmungspuffer,

(Triäthanolaminohydrochlorid, Na_2CO_3 , MgSO_4 und H_2O)

0,2 ml Enzymlösung

(DPNH, PEP-Na, ATP in 5 %igem Na_2CO_3) und

0,03 ml Enzymlösung

(LDH/+PK = 20 : 7)

in eine Meßküvette eingebracht, und die enthaltene DPNH-Konzentration photometrisch bestimmt. Der Start der Summenreaktion (IV) erfolgt durch Einbringung von 0,02 ml Glyzerokinase (GK/ H_2O = 1/1).

Nach minimal fünf Minuten erfolgt die photometrische Bestimmung der verbliebenen DPNH- Konzentration. Die Differenz aus der Anfangs- und Endkonzentration wird

über folgende Formel zur Glyzerinkonzentration umgerechnet:

$$\text{Glyzerin} = \frac{(\text{Extinktionsdiff. aus Probe u. Leerwert}) \cdot 3,05}{3,3}$$

$$\text{Glyzerin} = (\text{Val/ml} = (\text{Mikroval pro Milliliter}))$$

(3,05 ist eine Filterkonstante,
3,3 ein Umrechnungsfaktor, der sich aus der der Meßapparatur eigenen Umrechnungskonstanten 6,6 und dem Spreizfaktor 2 der Abbildungsapparatur ergibt.)

Bezieht man die Werte auf 1 Gramm Fett nach 2 Stunden Inkubationsdauer, so ergibt sich für die Glyzerinkonzentration die Bezeichnung:

$$\text{Glyzerin} = (\mu\text{Val/g.2h}) = \text{Mikroval pro Gramm nach 2 Std}$$

Fehler der Meßmethodik:

Mittelwert einer 10-Versuchsreihe :

$$M = 18 (\mu\text{Val/l})$$

$$= \pm 1,0 (\mu\text{Val/l} = \pm 5,6 \%)$$

Bestimmung des Netto-Gasaustausches (WARBURG)

1. Prinzip: Während der Inkubation des Fettgewebes wird durch die Stoffwechselvorgänge der Fettzelle O_2 verbraucht und CO_2 abgegeben. Die Volumendifferenz aus der O_2 - Aufnahme und der CO_2 - Abgabe, der sogenannte Nettogasaustausch, wird durch ein dem Untersuchungsgefäß angeschlossenes Manometer angezeigt.
2. Ausführung: Das Fettgewebe wird in der oben beschriebenen Weise in geeichte Warburggefäße zu 4 ml Pufferlösung (s.o.) zugegeben.
Das System aus: Warburgkölbchen, Warburg-Manometer und Verschlußkamin wird in ein konstant auf $37^\circ C$ gehaltenes Wasserbecken gebracht und mit einer Schüttelfrequenz von 60 Bewegungen / Minute bewegt.
Dabei wird das noch offene System zunächst fünf Minuten

mit Carbogengas begast und dann für 25 Minuten geschlossen. Danach herrscht gleichmäßig die optimale Temperatur von 37° C.

Nach Einstellung der Manometer auf die Nullmarke läuft die Apparatur 2 Stunden. Danach wird an den Manometern die Druckdifferenz abgelesen.

Die Berechnung des Netto-Gasaustausches erfolgt über die Formel:

$$NG = \frac{\text{Druckdifferenz} \cdot \text{Gefäßkonstante}}{\text{Fettgewicht}}$$

$$NG = (\text{ml/g.2h}) = (\text{Milliliter pro Gramm nach 2 Std.})$$

LISTE DER ABKURZUNGEN

D	=	Dosis
LP	=	Leerwert der Pufferlösung
LF	=	Leerwert des Fettgewebes
IF	=	Inkubierte Fettmenge pro Versuchsgefäß
NFS	=	Nicht veresterte Fettsäuren
NG	=	Netto-Gasaustausch
μVal/l	=	Mikroval pro Liter
μVal/g.2h	=	Mikroval pro Gramm nach 2 Stunden
DBI	=	Phenformin-hydrochlorid
DBV	=	l-Butyl-Biguanid-Buformin
Adr.	=	Adrenalin
ACTH	=	Adrenocorticotrophes Hormon
STH	=	Somatotrophes Hormon
E/ml	=	Einheiten pro Milliliter

DIE VERWENDETEN HORMONE:

Adrenalin:	Suprarenin-Ampullen (Dosis: 0,4 γ/ml Puffer)
Noradrenalin:	Arterenol-Ampullen (Dosis: 0,4 γ/ml Puffer)
ACTH : Ciba:	als Pulver in Amp. (Dosis: 0,04 E/ml)
STH : Organon:	als Pulver in spez. Lösungsmittel (Dosis: 33,3 γ/ml)

ERGEBNISSE

1. Die Wirkung von Preludin auf die Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren und Glyzerin aus dem isolierten Fettgewebe

Preludin wurde dem Puffermedium zunächst in Dosen von 40 - 200 μ /ml zugesetzt. Im Leerversuch nahm das Fettgewebe in geringer Menge NFS auf. Preludin führte trotz der verhältnismäßig hohen Dosierung nur zu einer geringfügigen, im methodischen Fehlerbereich liegenden Aufnahme von NFS ins Gewebe.

Im Leerversuch wurde Glyzerin in größerer Menge freigesetzt. Nach Preludingabe in oben angegebener Dosierung schwankte die Freisetzung nur unausgeprägt um diesen Ausgangswert. Siehe dazu Tab. (1).

Zur besseren Sichtbarmachung einer Preludinwirkung wurde dem Puffermedium Adrenalin (0,4 μ /ml) zugesetzt, das beim Fettgewebsleerwert zu einer erheblichen Steigerung der Freisetzung von NFS und Glyzerin führte. Nach Zugabe von Preludin in Dosen von 5 - 30 μ /ml wurde ab 20 μ /ml eine Hemmung dieser durch Adrenalin gesteigerten Freisetzung beobachtet, die für NFS und Glyzerin etwa 20 % ausmacht. Siehe Tab. (2) und Abb. (1)!

Preludindosen von 40 - 200 μ /ml verstärkten diese Hemmung für die NFS bis zu 60 %, für Glyzerin nur bis 25 %, wobei das Maximum der Hemmung schon bei 80 μ /ml erreicht wurde. Siehe dazu Tab. (3) und Abb. (2)!

2. Die Wirkung von F- 396 auf die Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren und Glyzerin aus dem isolierten Fettgewebe

Im Dosisbereich von 5 - 30 μ /ml fand sich weder für die NFS noch für Glyzerin eine erkennbare Beeinflussung der Freisetzung bzw. Aufnahme aus bzw. in das Fettgewebe. Nur für die Glyzerinfreisetzung fand sich bei 30 μ /ml eine Hemmung um etwa 10 %. Siehe Tab. (4)!

In drei Versuchen mit Dosen von 40 - 200 μ /ml fand sich keine erkennbare Wirkung von F- 396 auf die Freisetzung.

D	IF	NFS		Glyzerin	
		$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	304,0	-	-	-
LF	387,8	-56	-0,862	0,708	10,95
40	376,3	-79	-1,260	0,685	10,92
80	386,7	-67,5	-1,045	0,615	9,58
120	376,3	-56	-0,895	0,600	9,59
160	385,0	-56	-0,870	0,605	9,45
200	383,5	-90	-1,410	0,665	10,2

Tab. (1) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Preludin in Dosen von 40 - 200 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium

"Alle Tabellenwerte außer dem Pufferleerwert sind Differenzwerte zum Pufferleerwert. Liegen sie tiefer als LP, so ist vor den Differenzwert ein (-)Zeichen gesetzt."

D	IF	NFS		Glyzerin	
		$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	304,0	-	-	-
LF	370,9	760	12,25	0,752	12,15
5	365,4	750	12,25	0,738	12,15
10	374,2	755	12,1	0,745	11,95
15	380,1	745	11,75	0,752	11,86
20	378,4	617	9,75	0,756	12,0
30	359,6	594	9,78	0,575	9,6

Tab. (2) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Preludin in Dosen von 5 - 30 $\mu\text{g/ml}$ Puffer nach Adrenalinsubstitution (0,4 $\mu\text{g/ml}$, schon im LF enthalten) (Abb.1)

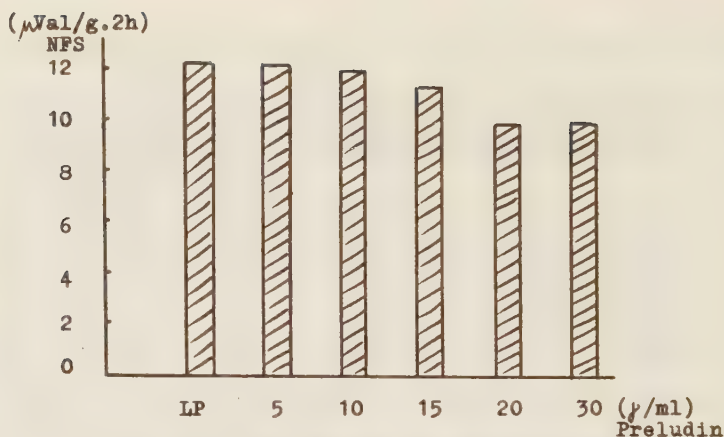


Abb.(1) Die Wirkung von Preludin auf die Freisetzung der NFS durch das Fettgewebe.
Substitution von 0,4 γ/ml Adrenalin. (Tab.2)
Auf der Abszisse die Konzentration von Preludin,
auf der Ordinate die freigesetzte NFS-Menge.

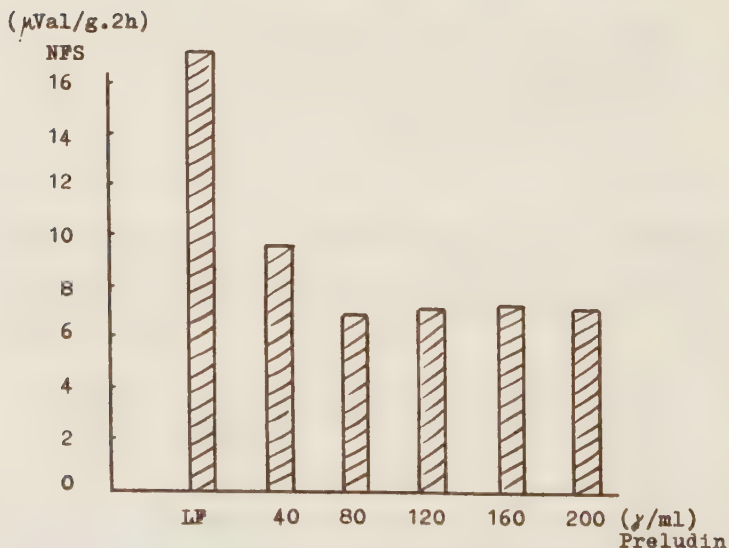


Abb.(2) Die Wirkung von Preludin auf die Freisetzung der NFS durch das Fettgewebe. Substitution von 0,4 γ/ml Adrenalin. (Tab.3)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	372,4	-	-	-
LF	345,6	998	17,25	0,795	13,8
40	374,0	606	9,7	0,690	11,08
80	371,4	428	6,8	0,655	10,6
120	375,8	446	7,2	0,660	10,55
160	385,5	474	7,35	0,655	10,1
200	380,3	474	7,2	0,650	10,14

Tab. (3) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Preludin in Dosen von 40 - 200 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium nach Adrenalinsubstitution (0,4 $\mu\text{g/ml}$, schon im LF enthalten)
(Abb. 2)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	381	-	-	-
LF	370,6	1310	21,2	1,020	19,9
40	342,2	1180	20,6	0,983	17,25
80	359,4	1155	19,3	0,970	16,2
120	365,3	1130	18,6	0,970	15,95
160	337,7	712	12,65	0,930	16,2
200	369,6	737	11,95	0,965	15,6

Tab. (6) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von F- 396 in Dosen von 40 - 200 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium nach Adrenalinsubstitution (0,4 $\mu\text{g/ml}$, schon im LP enthalten!)
(Abb. 4)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	280,0	-	-	-
LF	301,6	-105,0	-2,01	0,258	5,25
5	305,2	- 93,5	-1,84	0,258	5,15
10	310,6	- 93,5	-1,82	0,258	4,97
15	275,1	- 70,0	-1,53	0,240	5,3
20	276,5	-105,0	-2,27	0,240	5,6
30	311,1	- 82,0	-1,52	0,240	4,65

Tab. (4) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von F- 396 in Dosen von 5 - 30 γ /ml Puffermedium

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	332	-	-	-
LF	318,1	27,1	0,51	0,258	4,85
40	359,3	0	0	0,258	4,3
80	322,0	-253	-1,52	0,258	4,8
120	329,1	-166	-0,98	0,240	4,35
160	341,1	- 79,5	-0,48	0,245	4,3
200	336,7	80,5	00,48	0,240	4,25

Tab. (5a) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von F- 396 in Dosen von 40 - 200 γ /ml Puffermedium.

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	257	-	-	-
LF	350,5	116	1,98	0,235	5,2
40	308,9	23,2	0,46	-	-
80	352,0	23,2	0,39	0,180	3,05
120	326,9	93,5	1,81	0,222	4,08
160	363,5	11,6	0,19	0,169	2,78
200	373,4	69,6	1,12	0,141	2,3

Tab. (5b) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von F- 396 in Dosen von 40 - 200 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium.
(Abb. 3)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	280	-	-	-
LF	336,8	-37,6	-0,67	0,272	4,82
40	328,6	-37,6	-0,68	0,194	3,55
80	344,8	+18,6	0,32	0,189	3,3
120	341,5	0	0	0,143	2,5
160	343,2	18,8	0,33	0,171	3,0
200	345,2	18,8	0,33	0,176	3,0

Tab. (5c) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von F- 396 in Dosen von 40 - 200 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium.

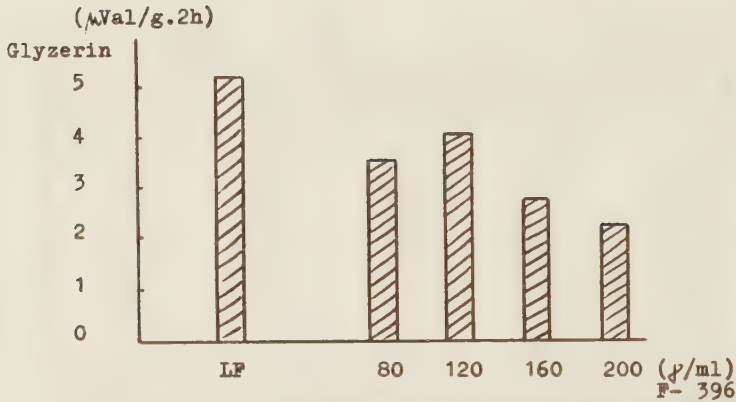


Abb.(3) Die Wirkung von F- 396 auf die Freisetzung von Glyzerin aus dem Fettgewebe.
(Tab.5b)

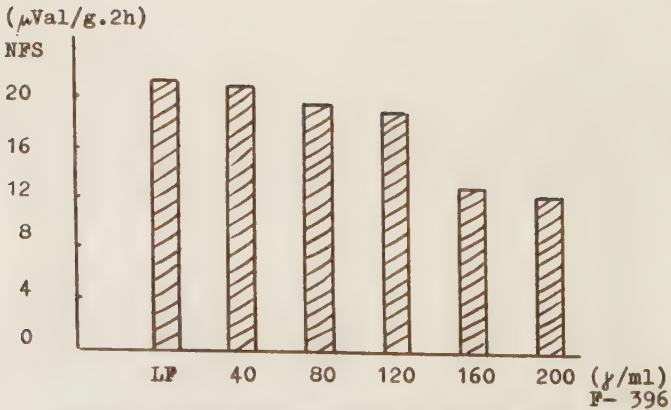


Abb.(4) Die Wirkung von F- 396 auf die Freisetzung von NFS aus dem Fettgewebe.
Substitution von 0,4 γ /ml Adrenalin
(Tab.6)

von NFS. (Tab. 5a,b,c). Bei der Glyzerinbestimmung wurde eine ungefähr linear dosisabhängige Senkung des Puffer-spiegels um 19 - 35 % gemessen. (Tab. 5b). Nach Adrenalin-zusatz konnte man bei der NFS- Freisetzung eine im Dosis-bereich zwischen 40 und 200 μ /ml liegende Hemmung um 3-49 % beobachten.

Die Glyzerinfreisetzung zeigte dazu parallel ebenfalls eine Hemmung, allerdings nur um maximal 21 % bei 200 μ /ml F- 396. (Tab. 6)

3. Die Wirkung von H- 475 auf die Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren und Glyzerin aus dem isolierten Fettgewebe.

In vier Versuchen wurden NFS in zwei Fällen im Leerver-such vom Gewebe freigesetzt, in einem gering aufgenommen. Dosen von 10 μ /ml führten zu keiner Beeinflussung der NFS-Freisetzung. Dosen von 100 μ /ml verursachten ein deutliches Absinken des NFS-Spiegels. (Tab. 7a).

Gleiche Ergebnisse erbrachte die Glyzerinbestimmung, bei der der Spiegel nach Zugabe von H - 475 um 30 - 70 % ab-fiel. (Tab. 7b und Abb. 5).

4. Die Wirkung von H- 610 auf die Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren und Glyzerin aus dem Fettgewebe.

50 μ /ml der Substanz erbrachten keine deutliche Wirkung auf die Freisetzung von NFS und Glyzerin. 500 μ /ml senkten den Spiegel beider Parametersubstanzen deutlich. (Tab. 8).

5. Die Wirkung von H- 683 auf die Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren und Glyzerin aus dem isolierten Fettgewebe.

50 μ /ml dieser Substanz führten bei der NFS-Freisetzung zu einer Erhöhung, 500 μ /ml gegenüber dem Fettgewebsleer-wert zu keiner Wirkung. Die Freisetzung von Glyzerin wurde durch 500 μ /ml um 15 % gesenkt. (Tab. 9).

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
a) LP	-	340	-	-	-
LF	307,4	179	3,5	0,465	9,0
10	309,1	160	3,12	0,465	9,0
100	303,5	0	0	0,324	6,32
b) LP	-	340	-	-	-
LF	320,0	169,5	3,18	0,481	8,95
10	291,8	186	3,8	0,452	9,3
100	329,5	-29	-2,0	0,344	6,23

Tab. (7a,b)

Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von H- 475 in Dosen von 10 und 100 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium.

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
c) LP	-	346	-	-	-
LF	235,5	24	0,61	0,306	7,15
10	268,0	0	0	0,288	6,45
100	279,0	-67	-2,0	0,223	4,8
d) LP	-	346	-	-	-
LF	267,1	-32	-0,67	0,306	7,15
10	260,3	-19	-0,4	0,301	6,45
100	237,0	-72	-1,82	0,072	1,8

Tab. (7c,d)

Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von H- 475 in Dosen von 10 und 100 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium. (Abb. 5)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
a) H-683					
LP	-	342	-	-	-
LF	237,6	43	1,08	0,387	9,75
50	234,2	128	3,3	0,383	9,78
500	226,4	51	1,34	0,316	8,35
b) H-610					
LP	-	348	-	-	-
LF	237,3	97	2,45	0,305	7,7
50	217,7	38	1,05	0,316	8,7
500	188,8	-43	-0,93	0,222	6,47

- Tab. (8) a: Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von H-683 in Dosen von 50 und 500 $\mu\text{g/ml}$ Pufferlösung.
- b: Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von H-610 in Dosen von 50 und 500 $\mu\text{g/ml}$ Pufferlösung.

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
a) H-810					
LP	-	542	-	-	-
LF	302,1	0	0	0,414	8,2
10	322,1	-38	-0,71	0,348	6,5
100	310,3	-38	-0,74	0,288	5,55
b) H-1000					
LP	-	270	-	-	-
LF	251,2	136,5	3,27	0,357	8,5
50	267,5	157	3,53	0,379	8,5
500	248,1	197	4,75	0,382	9,2

- Tab. (9) a: Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von H-810 in Dosen von 10 und 100 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium.
- b: Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von H-1000 in Dosen von 50 und 500 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium.

6. Die Wirkung von H - 810 auf die Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren und Glycerin aus dem isolierten Fettgewebe.

10 μ /ml dieser Substanz wie auch 100 μ /ml führten bei der NFS-Freisetzung zu keiner Wirkung. Der Glycerinspiegel wurde dagegen gegenüber dem Fettgewebsleerwert um 20-30 % gesenkt.

7. Die Wirkung von H - 1000 auf die Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren und Glycerin aus dem isolierten Fettgewebe.

Während die Dosis von 50 μ /ml keine Wirkung auf die Freisetzung von NFS und Glycerin zeigte, verursachten 500 μ /ml eine Verstärkung der NFS- und Glycerinfreisetzung.

8. Die Wirkung von Phenformin-hydrochlorid (DBI) auf die Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren und Glycerin aus dem isolierten Fettgewebe.

a: In drei Versuchen wurde DBI in Dosen von 5 - 30 μ /ml dem Puffermedium zugegeben. Dabei zeigte sich in allen Fällen ein dosisabhängiges Absinken des NFS-Spiegels gegenüber dem Pufferleerwert und auch dem Fettgewebsleerwert, was als geringes Einströmen in das Fettgewebe zu werten ist.

Die Freisetzung von Glycerin, das wie bei allen Versuchen schon ohne Stimulation vom Fettgewebe freigesetzt wurde, erfuhr ab 15 μ /ml DBI eine Hemmung um 6 - 20 %. (Tab. 10 a,b,c).

In einem Stichversuch wurde mit Dosen von 50 bzw. 500 μ /ml für die NFS-Freisetzung eine Hemmung von 35 bzw. 50 % beobachtet. (Tab. 11a). Die Glycerinwerte lagen dazu parallel: eine Hemmung um 15 bzw. 50 %. Ähnliche Ergebnisse zeigte die Dosisreihe 250-500-1000 μ /ml: Sowohl die NFS- wie die Glycerinfreisetzung wurden bis zu 75 % gehemmt (Tab. 11b).

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	292	-	-	-
LF	384,5	0	0	0,352	5,5
5	397,4	20,9	0,31	0,351	5,3
10	379,7	10,45	0,165	0,305	4,82
15	384,9	20,9	0,325	0,311	4,83
20	409,4	41,8	0,61	0,265	3,88
30	369,5	-20,9	-0,35	0,254	4,12

Tab. (10a) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Phenformin in Dosen von 5 - 30 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium.
(1. Versuch)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	270	-	-	-
LF	347,5	-58,5	-1,01	0,259	4,42
5	377,7	-105,2	-1,66	0,301	4,75
10	366,1	-129,0	-2,12	0,314	5,14
15	378,9	-117,0	-1,85	0,277	4,38
20	363,3	-105,2	-1,74	0,231	3,8
30	347,8	-70,5	-1,22	0,231	4,0

Tab. (10b) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Phenformin in Dosen von 5 - 30 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium.
(2. Versuch)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	336	-	-	-
LF	440,4	-112,0	-1,51	0,314	4,24
5	427,8	-137,0	-1,92	0,305	4,27
10	437,0	-149,7	-2,06	0,374	5,14
15	446,9	-149,7	-2,0	0,301	4,02
20	441,9	-149,7	-2,03	0,272	3,7
30	467,6	- 87,0	-1,12	0,259	3,32

Tab.(10c) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Phenformin in Dosen von 5 - 30 μ /ml Puffermedium. (3. Versuch)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
a)					
LP	-	273	-	-	-
LF	251,2	135,5	3,24	0,386	8,7
50	255,9	91,0	0,4	0,358	7,7
500	234,2	65,0	0,31	0,185	4,4
b)					
LP	-	280	-	-	-
LF	230,0	126	3,3	0,387	9,78
250	235,5	97	2,45	0,198	5,02
500	225,2	54	1,44	0,130	3,33
1000	237,1	35,5	0,9	0,092	2,52

Tab. (11) a: Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Phenformin in Dosen von 50 und 500 μ /ml Puffermedium.
b: In Dosen von 250 - 1000 μ /ml Puffermedium.

b: DBI - Ergebnisse nach Zusatz von Adrenalin:

0,4 μ /ml Adrenalin steigerten die NFS- und Glycerinfreisetzung aus dem Fettgewebe. (35).

5 μ /ml DBI führten hier zu einer nicht deutlichen NFS-Erhöhung um 4 %. (Tab. 12).

Der Glycerinspiegel erfuhr dabei keine Veränderung.

Die hohe Dosis von 500 μ /ml hemmte die NFS- und Glycerinfreisetzung deutlich um max. 80 %. (Tab. 13a,b).

In einer Dosiswirkungskurve von 5 - 30 μ /ml wurde bei der adrenalinstimulierten NFS-Freisetzung im Bereich von 5 μ /ml gegenüber dem Fettgewebsleerwert eine Steigerung um 9 % beobachtet, ab dem Bereich um 10 μ /ml jedoch eine Hemmung um maximal 13 %. (Tab. 14a,b,c).

Der Glycerinspiegel zeigte dabei nicht die Erhöhung bei 5 μ /ml, jedoch eine dosisabhängige Hemmung von 2,5 - 12 %. (Tab. 14a,b,c und Abb. 6).

In einem höheren Dosisspektrum (5 - 200 μ /ml DBI) wurde bei den NFS wieder eine leichte Spiegelerhöhung im Bereich zwischen 5 und 20 μ /ml beobachtet, dann ab 20 μ /ml eine dosisabhängige Hemmung bis zu 65 %.

Die Glycerinfreisetzung zeigte bei 5 μ /ml eine geringe Steigung, sonst parallel zur NFS-Freisetzung eine Hemmung um max. 60 %. (Tab. 15 und Abb. 7,8,9).

c: DBI - Ergebnisse nach Zusatz von Noradrenalin:

In einem Orientierungsversuch zeigte sich eine im Dosisbereich von 5 - 200 μ /ml liegende, deutliche Hemmung der NFS-Freisetzung um 15 - 65 %. Die Glycerinfreisetzung wurde gleichzeitig nur zwischen 7 - 25 % gehemmt. (Tab. 16).

d: DBI - Ergebnisse nach Zusatz von ACTH:

5 μ /ml DBI führten bei der durch 0,04 E/ml ACTH gesteigerten NFS-Freisetzung in einem Fall zu einer Steigerung, in einem zu einer leichten Hemmung. Der Glycerinspiegel sank in beiden Fällen um 7 %. (Tab. 17a,b).

In einer Dosiswirkungsreihe für den Bereich zwischen 5 und 50 μ /ml ergab sich für die NFS-Freisetzung in

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
a)					
LP	-	304	-	-	-
LF	383,4	23,4	0,365	0,423	6,42
+Adr.	421,7	925	13,15	0,965	13,45
+DBI	411,3	912	13,2	0,970	13,55
b)					
LP	-	328	-	-	-
LF	338,7	-46,8	-0,83	0,227	4,0
+Adr.	374,0	795	12,7	0,935	15,0
+DBI	362,8	830	13,75	0,922	15,25

Tab. (12a,b) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe. Stimulation der Freisetzung durch Zugabe von 0,4 $\mu\text{g/ml}$ Adrenalin (Suprarenin) und Beeinflussung durch 5 $\mu\text{g/ml}$ Phenformin (DBI). (2 Versuche)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	318	-	-	-
LF	281,0	71,5	1,53	0,365	7,8
+DBI	273,2	28,2	0,62	0,076	1,67
LF+Adr.	294,8	1070	21,9	0,816	16,6
+DBI	267,3	223	5,0	0,138	3,1

Tab. (13a) Freisetzung von Glyzerin und NFS aus dem Fettgewebe. Zum Vergleich zunächst Hemmung durch 500 $\mu\text{g/ml}$ Phenformin (DBI), dann Stimulierung der Freisetzung durch 0,4 $\mu\text{g/ml}$ Adrenalin und Hemmung dieses Vorgangs durch 500 $\mu\text{g/ml}$ Phenformin.

		NFS		Glyzerin	
D	IF	μ Val/l	μ Val/g.2h	μ Val/ml	μ Val/g.2h
LP	-	318	-	-	-
LF	281,0	71,5	1,53	0,365	7,8
+DBI	286,1	49,8	1,05	0,071	1,49
LF+Adr.	294,8	1070	21,9	0,816	16,6
+DBI	279,5	223	4,8	0,138	2,97

Tab. (13b) 2. Versuch zu 13a)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	μ Val/l	μ Val/g.2h	μ Val/ml	μ Val/g.2h
LP	-	280,5	-	-	-
LF	364,6	1500	24,6	0,845	13,9
5	375,1	1732	27,4	0,818	13,1
10	389,8	1547	23,8	0,878	13,5
15	392,5	1500	22,9	0,864	13,2
20	395,4	1500	22,8	0,780	11,8
30	407,2	1476	21,65	0,836	12,35

Tab. (14a) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Phenformin in Dosen von 5 - 30 μ /ml Puffermedium nach Stimulation mit 0,4 μ /ml Adrenalin.
(Schon in LF enthalten!)
(1. Versuch)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	504	-	-	-
LF	338,9	1465	25,8	0,828	14,75
5	337,9	1558	27,6	0,832	14,75
10	374,4	1580	25,25	0,841	13,4
15	376,5	1510	24,0	0,796	12,65
20	377,3	1418	22,5	0,745	11,83
30	372,6	1418	22,7	0,758	12,25

Tab. (14b)

2. Versuch zu (14a)

(Abb. 6)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	210,5	-	-	-
LF	331,9	1275	23,0	0,804	14,5
5	365,3	1262	20,8	0,832	14,15
10	368,7	1452	23,6	0,815	13,2
15	349,4	-	-	-	-
20	352,3	1143	19,4	0,805	13,7
30	344,8	1168	19,9	0,787	13,7

Tab. (14c)

3. Versuch zu (14a)

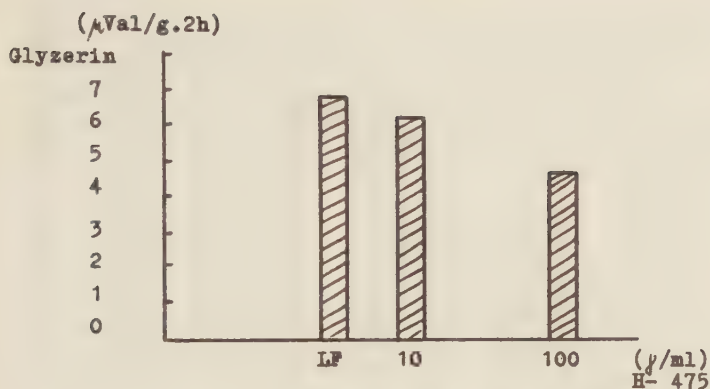


Abb.(5) Die Wirkung von H-475 auf die Freisetzung von Glyzerin aus dem Fettgewebe.
(Tab.7c)

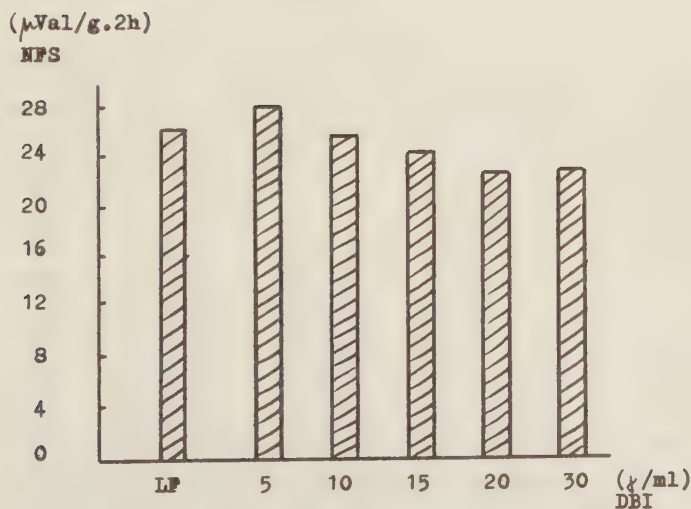


Abb.(6) Die Wirkung von DBI (Phenformin) auf die Freisetzung von NFS aus dem Fettgewebe. Stimulation mit 0,4γ/ml Adrenalin.
(Tab.14b)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	335	-	-	-
LF	418,8	1078	15,5	0,998	14,35
5	403,0	1182	17,6	0,992	14,8
20	417,7	1089	15,65	0,984	14,15
60	411,2	720	10,5	0,918	13,35
100	405,0	522	7,57	0,703	10,4
200	429,1	366	4,95	0,443	6,2

Tab. (15) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Phenformin in Dosen von 5 - 200 μ /ml Puffermedium nach Substitution von 0,4 μ /ml Adrenalin. (Schon in LF enthalten!) (Abb. 7,8)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	304	-	-	-
LF	360,4	1305	21,7	0,721	12,0
5	348,0	1070	18,45	0,645	11,1
15	354,0	1110	18,8	0,665	11,2
30	330,9	848	15,3	0,612	11,1
100	361,5	905	15,0	0,539	8,95
200	339,4	324	8,1	0,508	9,0

Tab. (16) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Phenformin in Dosen von 5 - 200 μ /ml Pufferlösung nach Substitution von 0,4 μ /ml Noradrenalin (Arterenol) (Schon im LF enthalten!)

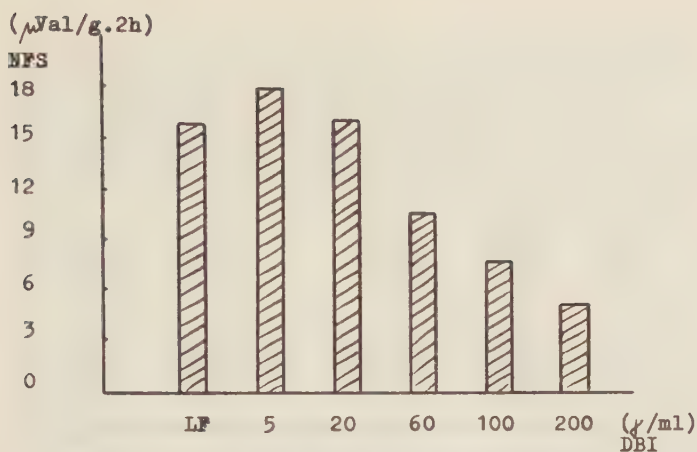


Abb.(7) Die Wirkung von DBI (Phenformin) auf die Freisetzung von NFS aus dem Fettgewebe. Stimulation mit 0,4 γ/ml Adrenalin. (Tab.15)

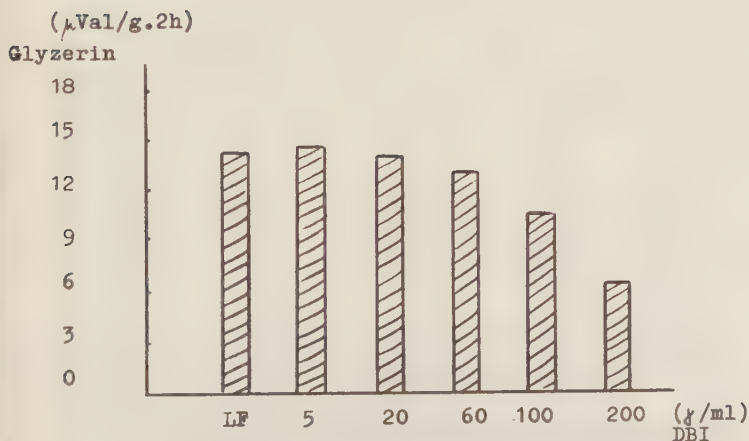


Abb.(8) Die Wirkung von DBI (Phenformin) auf die Freisetzung von Glyzerin aus dem Fettgewebe. Stimulation mit 0,4 γ/ml Adrenalin. (Tab.15)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	μ Val/l	μ Val/g.2h	μ Val/ml	μ Val/g.2h
a)					
LP	-	304	-	-	-
LF	383,4	+23,4	0,37	0,423	6,43
+ACTH	382,9	935	14,65	0,930	14,55
+DBI	374,1	985	15,8	0,970	13,9
b)					
LP	-	328	-	-	-
LF	383,7	-47	-0,75	0,227	3,54
+ACTH	358,9	1310	21,9	0,922	15,4
+DBI	401,2	1392	20,9	0,925	13,8

Tab. (17a,b) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe. Stimulation der Freisetzung durch Zugabe von 0,04 E/ml ACTH (= 0,87 μ /ml) und Beeinflussung durch 5 μ /ml Phenformin (DBI). (2 Versuche)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	μ Val/l	μ Val/g.2h	μ Val/ml	μ Val/g.2h
LP	-	331	-	-	-
LF	316,8	1160	22,0	0,780	14,8
5	344,4	1210	21,0	0,862	15,0
10	348,4	1180	20,25	0,940	16,2
15	363,3	1160	19,2	0,895	14,8
25	356,3	1132	19,1	0,895	15,0
50	354,7	956	16,2	0,812	13,7

Tab. (18a) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Phenformin in Dosen von 5 - 50 μ /ml nach Stimulierung mit 0,04 E/ml ACTH. (Schon in LF enthalten!) (1. Versuch)

zwei Fällen bei 5 und 10 μ /ml eine Steigerung. Ab 15 - 20 μ /ml fand sich eine Hemmung um etwa 15 %. In einem Fall fehlte die Steigerung zwischen 5 und 15 μ /ml.

(Tab. 18a,b,c).

Für die Glyzerinfreisetzung ergaben sich bis 15 μ /ml DBI Werte um den Fettgewebsleerwert. Ab 25 μ /ml wurde eine leichte Hemmung um etwa 6 - 10 % beobachtet.

(Tab. 18 b, Abb. 10).

Die Dosiswirkungskurve in einem breiteren Spektrum zwischen 5 - 200 μ /ml ergab: für die NFS im Bereich zwischen 10 und 60 μ /ml eine Steigerung um 14 - 8 %, (Tab. 19), Dosen zwischen 70 und 200 μ führten zu einer deutlichen Hemmung um max. 65 %.

Für Glyzerin zeigte sich ab 5 μ /ml bis 200 μ /ml eine dosisabhängige Hemmung zwischen 5 und 55 %.

(Tab. 19, Abb. 11,12).

e: DBI - Ergebnisse nach Zusatz von STH:

Dosen zwischen 5 und 200 μ /ml führten bei der durch 33,3 μ /ml STH gesteigerten NFS-Freisetzung zu einer Hemmung zwischen 25 bis annähernd 100 %. (Tab. 20).

Eine Glyzerinbestimmung war nicht möglich, da das STH-Lösungsmittel offensichtlich stark glyzerinhaltig war.

f: Nettogasaustausch:

Bei 5 μ /ml DBI sank der Manometerdruck um 12,4 % gegenüber dem Fettleerwert, der ungefähr dem Pufferleerwert entsprach. 10, 15, 20 und 30 μ /ml erhöhten den Nettogasaustausch annähernd linear auf Werte um maximal 500 ml/g.2h.

9. Die Wirkung von 1-Butyl-Biguanid (DBV = Buformin) auf die Freisetzung von Nichtveresterten Fettsäuren und Glyzerin aus dem isolierten Fettgewebe.

a: Die Versuche mit 5 - 30 μ /ml DBV resp. 40 - 200 μ /ml ergaben für die Freisetzung von NFS keine deutbare Wirkung. Dagegen wurde die Glyzerinfreisetzung durch Dosen

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	328	-	-	-
LF	384,3	982	15,2	0,860	13,4
5	384,0	1145	17,8	0,852	13,3
10	401,9	1038	15,5	0,870	13,0
15	393,4	1038	15,8	1,091	16,65
25	408,8	944	13,9	0,853	12,5
50	417,1	906	13,0	0,838	12,1

Tab. (18b) 2. Versuch zu (18a)
(Abb. 10)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	326	-	-	-
LF	384,9	910	14,4	0,785	12,25
5	395,1	1000	15,15	0,822	12,5
10	388,9	1000	15,4	0,776	12,0
15	390,3	1112	17,1	0,766	11,7
25	403,6	910	13,5	0,816	12,1
50	396,4	855	12,9	0,675	10,2

Tab. (18c) 3. Versuch zu (18a)

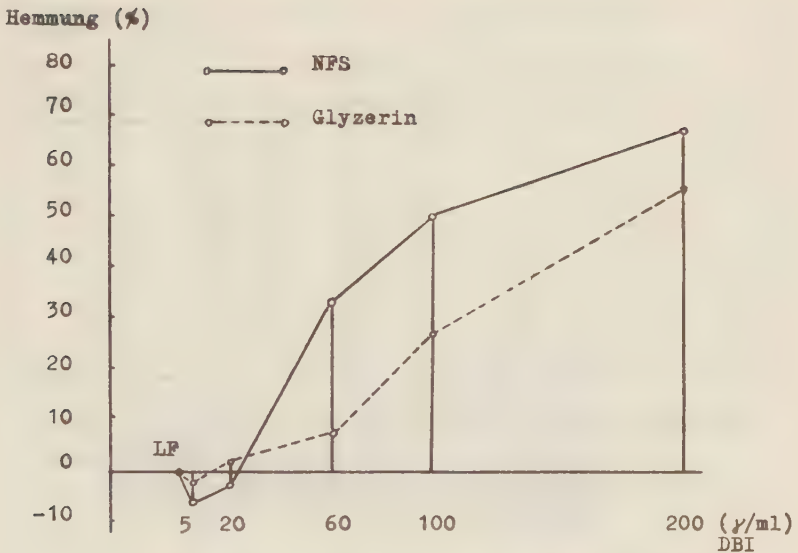


Abb.(9) Dosiswirkungskurve von Phenformin (DBI) für die Freisetzung von NFS und Glycerin aus dem Fettgewebe. Substitution von 0,4 µg/ml Adrenalin (Siehe Abb. 7 und 8, Tab.15)

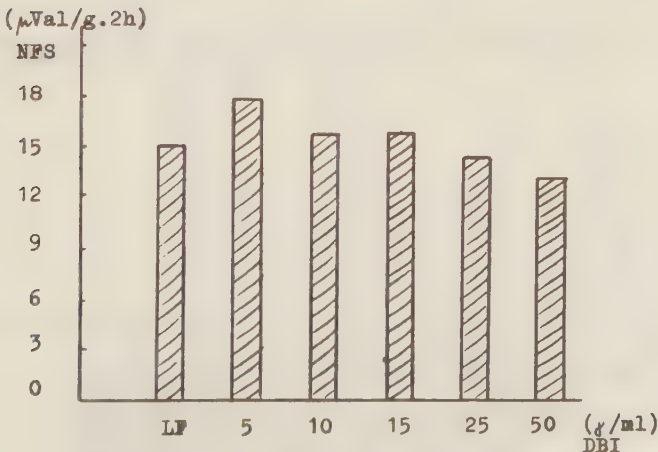


Abb.(10) Wirkung von Phenformin (DBI) auf die Freisetzung von NFS aus dem Fettgewebe. Substitution von 0,04 E ACTH/ml (Tab.18b)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	287	-	-	-
LF	392,9	1102	16,8	1,010	15,5
5	395,8	1102	16,8	0,975	14,8
20	396,5	1270	19,2	0,960	14,5
60	376,3	1140	18,2	0,958	14,5
100	396,7	615	9,3	0,647	9,75
200	385,3	407	6,3	0,446	6,95

Tab. (19) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Phenformin in Dosen von 5 - 200 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium nach Substitution mit 0,04 E ACTH.
(Schon im LF enthalten!)
(Abb. 11,12)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	340	-		
LF	451,8	1022	16,4		
5	442,3	924	12,6		
20	438,6	964	13,2		
60	426,8	645	9,05		
100	395,1	242	5,65		
200	423,7	20	0,28		

Tab. (20) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von Phenformin in Dosen von 5 - 200 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium nach Substitution mit 33,3 $\mu\text{g/ml}$ STH.
(Schon im LF enthalten)

(μ Val/g.2h)
NFS

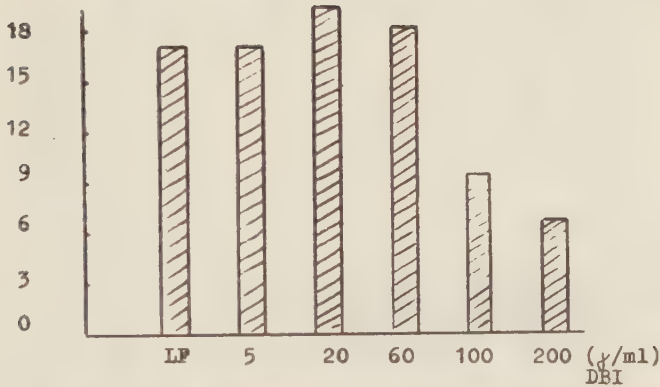


Abb.(11) Wirkung von Phenformin (DBI) auf die Freisetzung von NFS aus dem Fettgewebe. Substitution durch 0,04 E / ACTH. ml (Tab.19)

(μ Val/g.2h)

Glyzerin

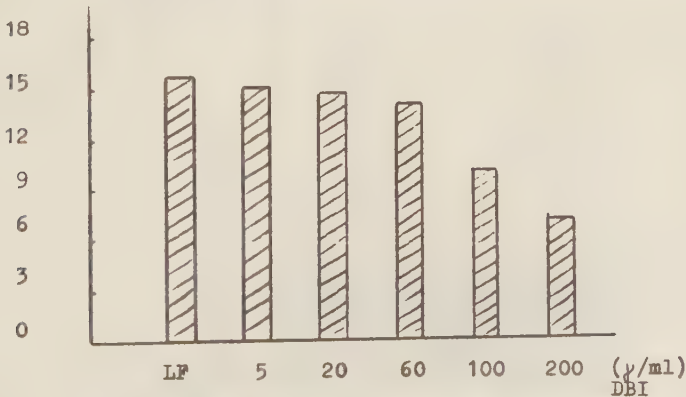


Abb.(12) Wirkung von Phenformin (DBI) auf die Freisetzung von Glyzerin aus dem Fettgewebe. Substitution durch 0,04 E /ml ACTH. (Tab.19)

D	IF	ml/g.2h
LP	-	-
LF	299,5	-60
25	308,7	121
125	315,4	340
250	297,1	286

Tab.(21) Nettogasaustausch des
Fettgewebes unter Wirkung
von Phenformin in Dosen
von 25 - 250 μ /ml Puffer-
medium.

D	IF	ml/g.2h
LP	-	-
LF	265,3	- 9,2
5	285,4	-21,6
10	286,1	91,5
15	281,5	339,0
20	262,5	508,0
30	282,6	525,0

Tab.(22) Nettogasaustausch des
Fettgewebes unter Wirkung
von Phenformin in Dosen
von 5 - 30 μ /ml Puffer-
medium.
(Abb. 13)

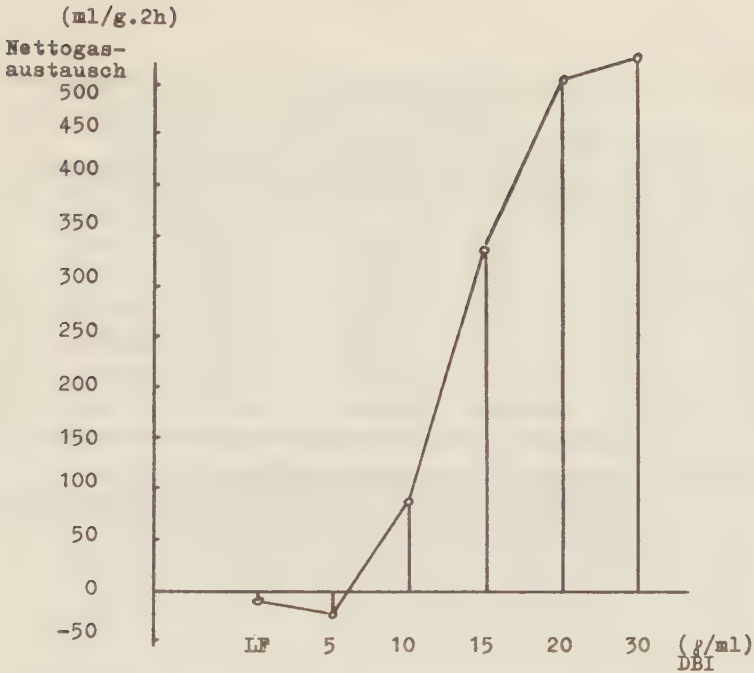


Abb.(13) Nettogasaustausch des Fettgewebes
unter Wirkung von Phenformin (DBI).
(Tab.22)

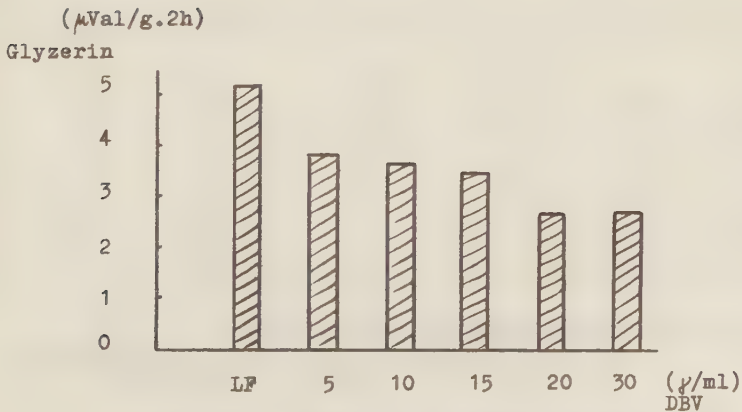


Abb.(14) Wirkung von 1-Butyl-Biguanid (DBV)
auf die Freisetzung von Glyzerin aus dem Fett-
gewebe.
(Tab.23)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	234	-	-	-
LF	347,8	-26,5	-0,46	0,305	5,25
5	412,4	-53,2	-0,76	0,259	3,78
10	425,2	-53,2	-0,75	0,259	3,66
15	417,0	-26,5	-0,38	0,240	3,45
20	375,1	-42,6	-0,68	0,161	2,6
30	434,3	-26,5	-0,37	0,186	2,6

Tab.(23) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von 1-Butyl-Biguanid in Dosen von 5 - 30 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium.
(Abb. 14)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	277,2	-	-	-
LF	312,2	-30,8	-0,60	0,342	6,6
40	375,2	-46,2	-0,74	0,217	3,48
80	325,5	-14,0	-0,26	0,186	3,41
120	323,5	-46,2	-0,84	0,185	3,41
160	325,7	0	0	0,171	3,15
200	336,9	0	0	0,143	2,55

Tab. (24) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von 1-Butyl-Biguanid in Dosen von 40 - 200 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium.

von 5 - 30 μ /ml DBV die Glyzerinfreisetzung um 18 - 41 % gehemmt. (Tab. 23, 24, Abb. 14).

b: DBV-Wirkung nach Zusatz von Adrenalin:

Nach Stimulation der Freisetzung mit 0,4 μ /ml Adrenalin wurde bei der NFS-Freisetzung im Dosisbereich zwischen 5 und 30 μ /ml bis 20 μ /ml ein deutlicher Anstieg um max. 58 % beobachtet, der bei 30 μ /ml auf 25 % zurückging. (Tab. 25, Abb. 15).

Mit Dosen zwischen 40 und 200 μ /ml wurde im Bereich von 40 μ /ml noch ein Anstieg der NFS um 11,5 % gemessen, der bei 80 μ /ml auf Null absank. Ab 80 μ /ml erfolgte eine deutliche Hemmung der NFS-Freisetzung um max. 38 %. (Tab. 26).

Der Glyzerinspiegel, durch Adrenalinzusatz erheblich erhöht, erfuhr durch Dosen von 5 - 30 μ /ml DBV keine deutliche Veränderung. (Tab. 25). Dosen von 40-200 μ /ml dagegen führten zu einer erheblichen Senkung um maximal 61 %. (Tab. 26, Abb. 16, 17, 18).

c: DBV-Ergebnisse nach Zusatz von ACTH:

Nach Zusatz von 0,04 E/ml ACTH erfolgte im Dosisbereich von 5 - 30 μ /ml eine Steigerung der NFS-Freisetzung um max. 66,5 % im Bereich um 10 μ /ml, die bei 20 μ /ml wieder zurückfiel auf 6 %. (Tab. 27, Abb. 19).

Im Dosisbereich zwischen 40 und 200 μ /ml fand sich eine dosisabhängige Hemmung um 6,5 % bis max. 42 % (Tab. 28, Abb. 20).

Der Glyzerinspiegel unterlag im Dosisbereich von 5-30 μ /ml Schwankungen um den Fettgewebsleerwert. Dosen zwischen 40 und 200 μ /ml führten zu einem deutlichen Abfall um 2 - 53 %. (Tab. 28, Abb. 21).

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	332	-	-	-
LF	386,7	1082	14,75	0,785	12,2
5	403,4	1190	17,8	0,805	12,0
10	405,8	1190	19,0	0,775	11,45
15	365,0	1870	23,3	0,750	12,4
20	383,0	1245	18,2	0,768	12,0
30	373,0	1082	15,0	-	-

Tab. (25) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von 1-Butyl-Biguanid in Dosen von 5 - 30 μ /ml Puffermedium nach Substitution von 0,4 μ /ml Adrenalin.
(Schon im LF enthalten!)
(Abb. 15)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	330	-	-	-
LF	279,4	598	13,1	0,925	20,2
40	250,7	682	14,5	0,832	20,0
80	258,9	585	13,6	0,574	13,25
120	264,0	438	10,0	0,407	9,25
160	235,8	368	9,35	0,364	9,25
200	260,7	354	8,15	0,342	7,85

Tab. (26) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von 1-Butyl-Biguanid in Dosen von 40 - 200 μ /ml Puffermedium nach Substitution von 0,4 μ /ml Adrenalin.
(Schon im LF enthalten!)
(Abb. 16,17)

(μ Val/g.2h)

NFS

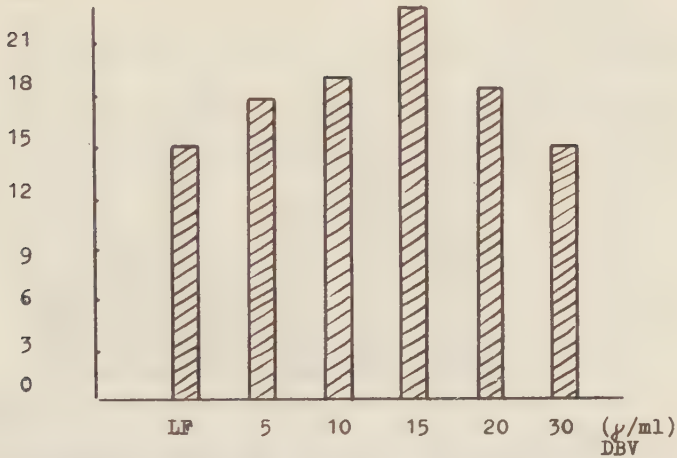


Abb.(15) Wirkung von 1-Butyl-Biguanid (DBV)
auf die Freisetzung von NFS aus dem Fettgewebe.
Substitution von 0,4 μ /ml Adrenalin.
(Tab.25)

(μ Val/g.2h)

NFS

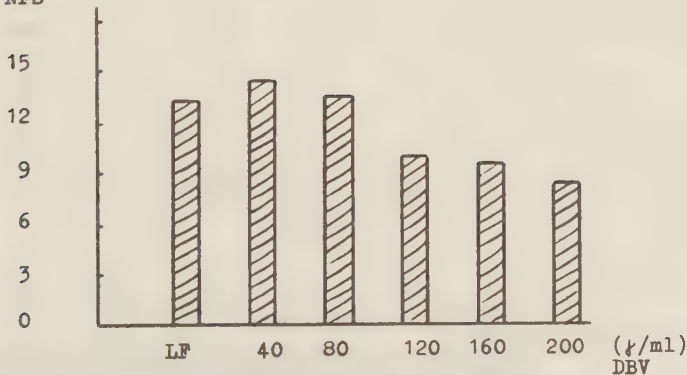


Abb.(16) Wirkung von 1-Butyl-Biguanid (DBV)
auf die Freisetzung von NFS aus dem Fettgewebe.
Substitution von 0,4 μ /ml Adrenalin.
(Tab.26)

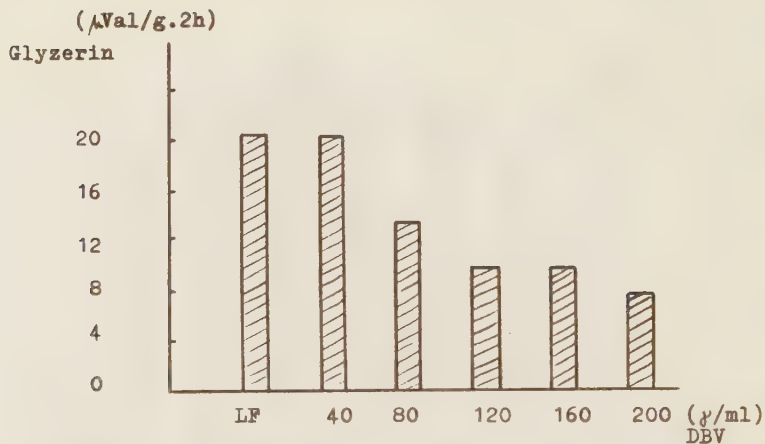


Abb.(17) Wirkung von 1-Butyl-Biguanid (DBV) auf die Freisetzung von Glyzerin aus dem Fettgewebe. Substitution von $0,4\mu\text{/ml}$ Adrenalin. (Tab.26, Abb.18)

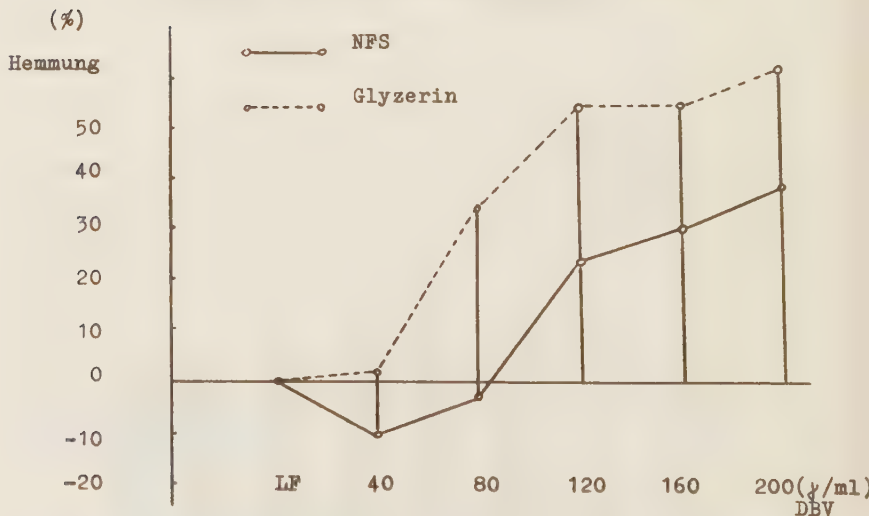


Abb.(18) Dosiswirkungskurve von 1-Butyl-Biguanid (DBV) für die Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe. (Siehe Abb.17 u. Tab.26)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	318	-	-	-
LF	287,1	1235	25,7	0,766	16,0
5	315,6	1355	25,7	0,685	13,0
10	266,1	1900	43,0	0,775	17,5
15	265,1	1485	33,5	0,722	16,15
20	303,7	1380	27,4	0,740	14,6
30	277,8	1354	27,6	0,785	16,8

Tab. (27) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von 1-Butyl-Biguanid in Dosen von 5 - 30 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium nach Substitution von 0,04 E ACTH.
(Schon im LP enthalten!)
(Abb. 19)

		NFS		Glyzerin	
D	IF	$\mu\text{Val/l}$	$\mu\text{Val/g.2h}$	$\mu\text{Val/ml}$	$\mu\text{Val/g.2h}$
LP	-	328	-	-	-
LF	310,7	1440	27,25	0,885	16,1
40	304,2	1295	25,6	0,800	15,8
80	297,5	1215	24,0	0,625	12,6
120	317,2	1005	19,0	0,520	9,9
160	312,1	800	15,5	0,400	7,7
200	320,0	835	16,0	0,402	7,55

Tab. (28) Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem Fettgewebe unter Wirkung von 1-Butyl-Biguanid in Dosen von 40 - 200 $\mu\text{g/ml}$ Puffermedium nach Substitution von 0,04 E ACTH.
(Schon im LF enthalten!)
(Abb. 20,21)

(μ Val/g.2h)

NFS

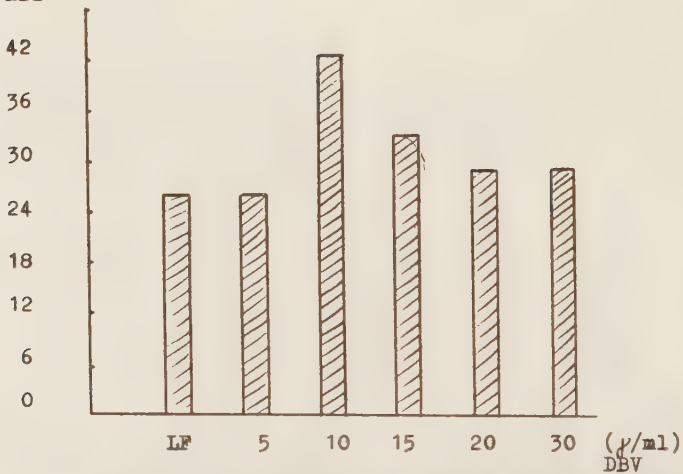


Abb.(19) Wirkung von 1-Butyl-Biguanid (DBV) auf die Freisetzung von NFS aus dem Fettgewebe. Substitution von 0,04 E ACTH/ml. (Tab.27)

(μ Val/g.2h)

NFS

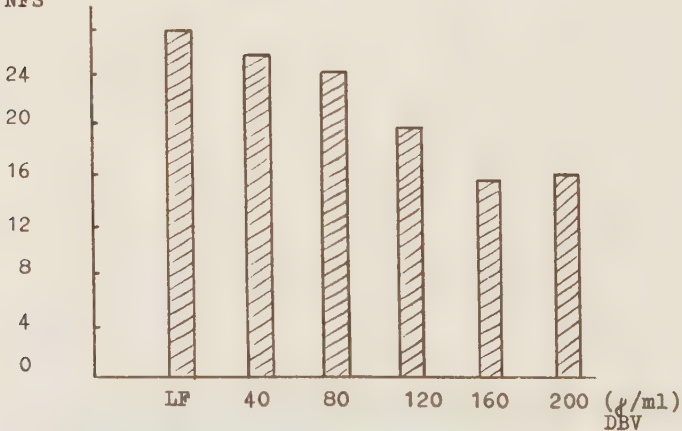


Abb.(20) Wirkung von 1-Butyl-Biguanid (DBV) auf die Freisetzung von NFS aus dem Fettgewebe. Substitution von 0,04 E ACTH/ml. (Tab.28)

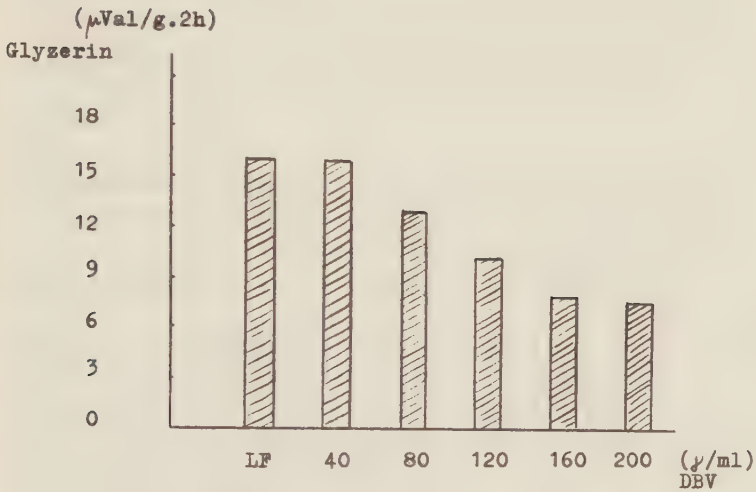


Abb.(21) Wirkung von 1-Butyl-Biguanid (DBV)
auf die Freisetzung von Glyzerin aus dem Fett-
gewebe. Substitution von 0,04 E ACTH/ml.
(Tab.28)

DISKUSSION

Die Bedeutung des Fettgewebes, früher nur als Depotorgan des Körpers angesehen, als stoffwechselaktives Organ wurde erst in den letzten Jahren erkannt. Eine nahezu unerschöpfliche Literatur, die seitdem publiziert wurde, ist Ausdruck der Aktivität, mit der sich die Medizinische Forschung um die Aufklärung der Stoffwechselvorgänge im Fettgewebe bemühte.

Zur Veranschaulichung der dabei gefundenen Erkenntnisse sei hier auf einige der schon bekannten Stoffwechselleistungen des Fettgewebes eingegangen:

a) Die Synthese und der Einbau von Triglyzeriden in die Fettzelle:

Während sich im strömenden Blut die Triglyzeride vornehmlich an Phospholipide, Cholesterin und Proteine gebunden finden, in Form der Lipoproteide und Chylomikronen, enthält das Fettgewebe fast ausschließlich reine Triglyzeride. Inkubiert man einzelne Fettstückchen in Blutserum, so ziehen sie diesem nur Triglyzeride. (STERN-SHAPIRO: 38). Bei diesem Assimilationsprozess sind weder die Chylomikronen noch die Serumproteine beteiligt (RODBELL 39). Die Triglyzeride treten intakt in die Fettzelle über und können danach nicht mehr ausgewaschen oder ausgetauscht werden. Innerhalb der Fettzelle werden die Triglyzeride umgebaut. RODBELL (39) fand anstelle dem Medium zugefügten Tripalmitats gemischte Triglyzeride im Zellinnern, die Palmitinsäure und ungesättigte Fettsäuren enthielten. Es handelt sich bei diesem Umbau um eine Hydrolyse mit folgender Reesterifikation:

Triglyzeride werden also in zwei Phasen in die Zelle aufgenommen: 1) dem Medium entzogen und 2) in der Zelle biologisch umgebaut.

Gleiche Ergebnisse zeigten Versuche von ROSE und SHAPIRO (40) und BEZMAN et.al. (41). BEZMAN fand, daß für die Aufnahme der Triglyzeride in die Fettzelle eine Lipoprotein-Lipase vorhanden sein müsse. Die Triglyzeridaufnahme und

die Lipoprotein-Lipaseabgabe des Gewebes hielten sich die Waage.

RODBELL (39), MARKSCHEID (42) und SHAFRIR entdeckten bei Versuchen mit Hemmstoffen dieser Lipase-Aktivität wie DFP und EDTA, daß diese am Fettgewebe die Lipaseaktivität nur teilweise hemmten und folgerten daraus, daß diese intrazellulär, und daher wenig angreifbar für die Inhibitoren sitze.

b) Einbau und Umbau von Nichtveresterten Fettsäuren:

Die NFS, einem Puffermedium zugegeben, werden vom inkubierten Fettgewebe aufgenommen und esterifiziert, wobei die Aufnahme quantitativ von der NFS-Konzentration im Puffermedium abhängt. (STERN-SHAPIRO 38, ROSE u. a. 43, 44). Zugabe von Glukose ins Medium erhöht nach BALLY- (45), KERPEL- (46), RABEN- (47, 48) und REICHL- (49) diese NFS-Aufnahme und deren Reesterifikation.

Nach SHAPIRO (50), MILSTEIN (51) und BALLY (45) senkt Glukose gleichzeitig die intrazelluläre Verbrennung von zugegebener Palmitinsäure zu CO_2 .

KERPEL et. al. (46) fanden, daß die in der Zelle befindlichen NFS-Konzentrationen keinen Einfluß auf die Assimilation von Medium-NFS ausüben. Wie KERPEL fanden auch VAUGHAM (52), STEIN (53) und HIRSCH (54) einen aktiven Faktor im Fettgewebe, der die Assimilation und Esterifikation der NFS bewirkt.

Ähnlich dem Aufnahmemechanismus der Triglyzeride erfolgt die Aufnahme der NFS aus dem Puffermedium in zwei Stufen: 1) Aufnahme durch eine Fettgewebskomponente und nachfolgende Esterifikation und 2) Transport dieser Ester in die Fettropfen der Zelle.

Nach WEISS (60), TIETZ (61), STEIN (62), GOLDMAN (65), SMITH (67) und MARGOLIS (68) erfolgt der Umbau zu Triglyzeriden in folgender Weise:

- I. $\text{NFS} + \text{CoA} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{NFS}'\text{CoA} + \text{AMP} + \text{PP}$
- II. $2 \text{ NFS}'\text{CoA} + \text{GP} \rightleftharpoons \text{Diglycerophosphat} + 2 \text{ CoA}$
- III. $\text{Diglyc. Ph.} \rightleftharpoons \text{Diglyzerid} + \text{P}$
- IV. $\text{Diglyc.} + \text{NFS-CoA} \rightleftharpoons \text{Triglyzerid} + \text{Co A}$

(-GP = - Glyzerophosphat; PP = Phosphopyruvat)

3) Einbau von Glukose : Dem Puffergewebe zugegebene Glukose wird in der Fettzelle sowohl für die Synthese von Fettsäuren als auch zur Bildung der Glyzerinkomponente der Triglyzeride herangezogen. (WINEGRAD- 56). Dabei wird die Fettsäurebildung durch Insulin zu Lasten der Glyzerinkomponente erheblich gesteigert (CAHILL- 57, LEONARDS- 58, VAUGHAM- 52, JEANRENAUD- 59).

4) Glyzerin wird nach Arbeiten von SHAPIRO (44), LYNN (69) und CAHILL (70) dem Medium nur wenig entzogen. Es kann das Glyzerophosphat nicht ersetzen.

5) Enzymatik: Die Esterifikation der NFS geht nach WEISS (60), TIETZ (61) und STEIN (62) im Fettgewebe ähnliche Wege wie in der Leber. SHAPIRO entdeckte 1955 (63) ein ATP-abhängiges Aktivierungssystem für langkettige Fettsäuren. Die einzelnen oben gezeigten Schritte zum Triglyzerid demonstrierten ROSE und SHAPIRO (40) sowie STEINBERG (64), GOLDMAN (65) und DI COSTANZO (66) in einer Reihe von Arbeiten.

WIELAND u.a. (71) fanden keine Anzeichen für eine Glyzerokinase-wirkung.

CAHILL u.a. (57) entdeckten eine Transaldolasereaktion:
Fruktose-6-P. + Glycerinaldehyd == Glyc.Ald.-3-P. +
d-Fruktose;

außerdem eine Phosphatasewirkung.

Nach SHAPIRO (72) dominiert im Fettgewebe die Synthese von Triglyzeriden mit Glyzerophosphat als Akzeptor. Ein lipase-aktivierter Austausch, oder ein Diglyzerid als Akzeptor sind von geringer Bedeutung.

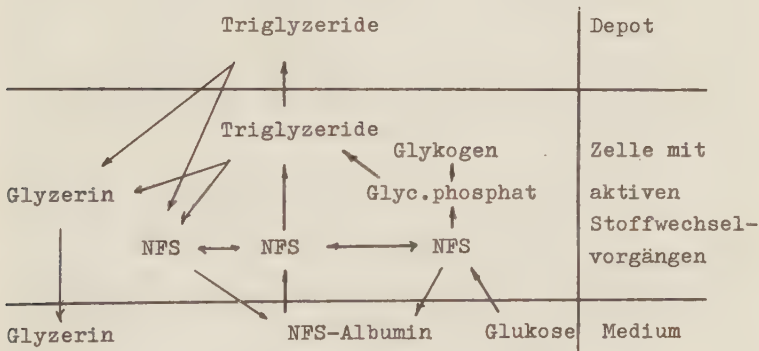
Die erste Phase der Assimilation der NFS aus dem Medium, also die Lösung von ihrem Albuminträger, hervorgerufen durch eine von VAUGHAM (52), STEIN (53) und HIRSCH (54) genannte Fettgewebskomponente, erfolgt ohne enzymatische Wirkung: Wie auch RESHEF und SHAPIRO berichten, erfolgt sie auch bei Temperaturen um 0°C.

6) Lipolyse: Inkubiert man Fettgewebe in einem Puffermedium, das Albumin enthält, so wird eine deutliche NFS-

Freisetzung beobachtet. (RESHEF- 74, SHAPIRO- 75, 76 und CHERKES- 76).

LYNN et. al. (64) und LEBOEUF (71) fanden eine gleichzeitig erfolgende Glyzerinfreisetzung. Da beide Substanzen im Puffer nicht zu Triglyzeriden resynthetisiert werden können, (78, 79), bilden sie ein Maß für die Lipolyse.

Da Glyzerin von der Fettzelle kaum aufgenommen werden kann (siehe oben 44, 69, 74), ist das aus der Zelle freigesetzte Glyzerin quantitativer Ausdruck einer Lipolyse. (68,71). In einem Schema stellt sich der Stoffwechsel der Fettzelle wie folgt dar:



Enzymatik: Nach VAUGHAM (80) wirkt die Lipoproteinlipase nicht bei der Freisetzung von NFS und Glyzerin aus der Zelle. HOLLENBERG (81), RITZAK (82), MOSINGER (83) und VAUGHAM (85) fanden eine wirksame Lipaseaktivität, die durch Hormone wie Adrenalin oder ACTH zu steigern ist und nannten sie: Hormonsensitive Lipaseaktivität.

Nach MASHBURN et.al. (92), LYNN (69) und VAUGHAM (85) finden sich darunter Lipasen mit verschiedenen Funktionen, die jedoch im einzelnen noch nicht isoliert werden können: Lipasen, die speziell Triglyzeride und eine zweite Gruppe, die speziell niedrigere Glyzeride spalten.

Bei einem Großteil der vorliegenden Versuche wurden Adrenalin, Noradrenalin, ACTH oder STH dem Puffermedium zugesetzt. Die steigernde Wirkung dieser Hormone auf die Lipolyse und damit die Freisetzung von NFS und Glyzerin ist seit einiger Zeit bekannt. Arbeiten von HOLLENBERG (81), RIZAK (82), MOSINGER (83), VAUGHAM (85), KUJALOWA (86) und BJÖRNTORP (87) wiesen auf die deutliche Steigerung hin, die die Freisetzung von NFS und Glyzerin aus dem inkubierten Fettgewebe durch die Hormonwirkung erfuhr: bei einem Fettgewebe, dessen normale Lipaseaktivität nach 90 Minuten Inkubationszeit auf 30 - 50 %, nach 3 Stunden auf weniger als 10 % abgesunken war, wurde durch Zusatz eines dieser Hormone in quantitativ etwas unterschiedlicher Weise die Lipaseaktivität innerhalb von 3 Minuten bedeutend gesteigert.

In Experimenten von VAUGHAM erfolgte nach Gabe von 17 γ /ml Noradrenalin eine Steigerung des NFS-Spiegels um 100 %, nach Gabe von 0,2 E /ml ACTH ein Anstieg um 80 %. (84).

In Versuchen an der II. Medizinischen Klinik der Universität München (88) ergaben sich vergleichbare Werte : Nach 0,4 μ /ml Adrenalin stieg der NFS-Spiegel von einem Ausgangswert von 600 μ Val/l auf 1440 μ Val/l, nach 0,04 E ACTH von 600 μ Val/l auf 1670 μ Val/l und nach 40 μ /ml STH von 200 μ Val/l auf 2120 μ Val/l.

Diese Wirkung scheint nach RABEN (88) nicht auf einer Steigerung des Abtransportes der NFS oder des Glyzerins aus der Fettzelle zu beruhen, sondern einer unmittelbaren Beeinflussung der Lipolyse.

Zu genau vergleichbaren Ergebnissen führten Versuche von BJÖRNTORP (87), STEINBERG (89), GORDON (90) und LEBOEUF (91).

Auf der Suche nach dem Wirkungsmechanismus dieser sog. lipolytisch wirkenden Hormone wurde die Existenz einer hormonempfindlichen Lipase oder eines Lipasensystems gefordert. Wie schon oben berichtet (69,81,82,83,85) wurden von verschiedenen Autoren solche Lipasen beschrieben.

Unter Zugrundelegung dieser Berichte stellten LÖFFLER und WEINGES Untersuchungen über die hormonelle Beeinflussung der Lipase und Phosphorylase in vitro mit Adrenalin und Glukagon an.(35). Sie fanden zunächst, daß bei beiden Hormonen das Verhältnis der nach der Inkubation freigesetzten Fettsäuren zum freigesetzten Glycerin immer konstant bei 2,5/ 1 lag, was dem erwarteten Wert von 3,0/1 bei angenommener reiner Triglyzeridspaltung sehr nahe kommt. Das Fett der Fettgewebszelle besteht somit fast ausschließlich aus Triglyzeriden. Dabei ergab sich ferner, daß die Hauptaktivität der Lipasewirkung an das Fettgewebefett gebunden ist.

Die Aktivierung der Lipase wie der Phosphorylase erfolgt durch Glukagon wesentlich stärker als durch Adrenalin. Schon bei Dosen von 0,04 μ /ml ist eine deutliche Steigerung zu beobachten. Die Aktivierung erfolgt nach WEINGES (94) so rasch, daß man eine Neusynthese des Enzyms unter der Hormonwirkung wohl ausschließen kann. Offensichtlich besteht ein dynamisches Verhältnis zwischen einer aktiven und einer inaktiven Lipase.(95).

Wurden die genannten Hormone einem Fettgewebshomogenat zugeführt, so fand sich keine Steigerung der Lipaseaktivität, was zu der Vermutung führte, daß für die Lipaseaktivierung eine intakte Zellstruktur nötig sein könnte.

Zur genaueren Erforschung des Wirkungsmodus wurde der Einfluß von α -und β -adrenolytisch wirkenden Substanzen untersucht. Das β -adrenolytisch wirkende Kö 592 (1-methylphenoxy)-3-isopropylaminopropanol) hemmte Adrenalin dosisabhängig. Das α -adrenolytisch wirksame Phentolamin hemmte es wesentlich schwächer. Glukagon konnte von beiden Substanzen nur unwesentlich gehemmt werden.

Zusammenfassend darf man also die Existenz einer aktiven und einer inaktiven Lipase annehmen, wie es schon für die Phosphorylase nachgewiesen werden konnte.

Eine Deutung dieser Ergebnisse ist noch schwierig. Der Unterschied in der Hemmbarkeit des Glukagons gegenüber dem Adrenalin ließe sich vielleicht damit erklären, daß

Glukagon nicht über eine Freisetzung von Katecholaminen wirkt. Möglicherweise hat es einen anderen Angriffspunkt als Adrenalin.

Den Versuch, einen Unterschied im Wirkungsmechanismus der genannten Hormone, wie ACTH, Adrenalin oder STH zu finden, unternahmen u.a. HOLLENBERG (81) und RIZAK (82). Adrenalin und ACTH zeigten beide den gleichen Effekt: sie steigerten die Freisetzung von NFS quantitativ ungefähr gleich. (Gleiches berichten HOLLENBERG u. DOUGLAS -97). Doch unterscheiden sich bei beiden Substanzen die pH-Werte sehr erheblich. Für den lipolytischen Effekt des ACTH ist die Gegenwart von Ca-Ionen nötig, was für den Adrenalineffekt nicht gilt. (RIZAK, LOPEZ et.al. 96). STH verursachte bei RABEN und HOLLENBERG-(88) u.a. keine Aktivierung der Lipase am isolierten Fettgewebe. Bei den Versuchen in der hier vorliegenden Arbeit wurde allerdings eine sehr erhebliche Aktivierung der Lipaseaktivität beobachtet. (Tab.23).

Bei offensichtlich gleicher Wirkung auf die Lipolyse muß also ein verschiedener Wirkungsmechanismus der einzelnen Hormone angenommen werden, der im einzelnen noch nicht geklärt ist.

Im Zusammenhang mit dieser Arbeit wurden Adrenalin, ACTH und STH ausschließlich zum Zwecke der Lipolyseaktivierung verwandt und zeigten dabei den bekannten Effekt.

Die in dieser Arbeit verwandten Prüfsubstanzen wurden, wie schon eingangs berichtet, speziell in ihrer Wirkung auf die Lipolyse in der Fettzelle untersucht.

Zur ersten großen Gruppe, den A p p e t i t z ü g l e r n liegt eine Reihe von Experimenten vor, deren Befunde eine Prüfung ihrer Wirkung auf die Lipolyse in vitro anregten. BEHREND und DEININGER (1) hatten jungen und älteren Ratten u.a. die Appetitzügler Phenmetrazin (Preludin) und Chlorphentermin zum Futter beigegeben und dabei Nahrungsaufnahme, Gewichtszunahme bzw. -abnahme gegenüber Vergleichstieren gemessen. Sie fanden, daß junge Ratten gegenüber Vergleichstieren nach Phenmetrazingabe eine signifikant

reduzierte Nahrungsaufnahme zeigten und damit in ihrer Gewichtsentwicklung zurückblieben. Bei älteren Ratten fanden sie, daß die phenmetrazinbehandelten Tiere gegenüber den Vergleichstieren an Gewicht verloren.

Ähnliche Beobachtungen machten sie auch bei Versuchen mit Hunden.

BEHREND und DEININGER folgerten daraus eine Wirkung dieser anorexigenen Substanzen auf das Regulationszentrum der Nahrungsaufnahme im Hypothalamus.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch OPITZ und LOESER (2), die sich mit denen von BEHREND und DEININGER deckten.

Auch sie beobachteten eine Minderung der Gewichtszunahme mit Phenmetrazin behandelter junger Ratten und einen Gewichtsschwund bei behandelten älteren Ratten.

Abweichend von BEHREND und DEININGER bestimmten sie noch das jeweilige Gewicht der Nebenhodenfettanhänge der Tiere und fanden, daß unter Wirkung der verwendeten Appetitzügler deren Gewicht im Vergleich zu unbehandelten Tieren signifikant verringert wurde. Die Frage, ob dieser Gewichtsschwund nur eine Folge der durch die Appetitzügler verursachten verminderten Nahrungsaufnahme ist oder ob deren Wirkung direkt den Fettstoffwechsel beeinflußt, suchten OPITZ und LOESER damit zu klären, daß sie in einer weiteren Versuchsreihe das Nebenhodenfett von Hungerratten mit dem von normal ernährten, aber preludinbehandelten verglichen. Dabei fanden sie, daß das Fettgewebe der preludinbehandelten Ratten gegenüber dem der Hungertiere signifikant verringert war.

Daraus folgerten OPITZ und LOESER, daß die Appetitzügler eine lipolytische Wirkung hätten, eine an sich nicht völlig logische Folgerung, da ja auch eine rein toxische Wirkung dieser Substanzen bei normal ernährten Tieren den Fettstoffwechsel so erheblich stören könnte. Die Vermutung einer lipolytischen Wirkung äußerten auch HOHN und Mitarbeiter (3) und JEANRENAUD (4), die bei mit Appetitzüglern behandelten Ratten den Blut-Fettsäurespiegel bestimmten und fanden, daß nach Preludinapplikation dieser Spiegel

signifikant anstieg.

In den vorliegenden Versuchen konnte nicht bestätigt werden, daß diese Substanzen lipolytisch wirksam sind. Preludindosen von 40 - 200 μ /ml Puffermedium zeigten keine Veränderung der NFS- und Glyzerinfreisetzung. (Tab. 1).

Ein durch Adrenalinzusatz erhöhter NFS- und Glyzerinspiegel sank unter Preludinwirkung (Tab. 2,3) (Abb. 1,2) ab. Preludin hemmt also dosisabhängig die Lipolyse, ein Ergebnis, das jedenfalls in vitro im Gegensatz zu den Vermutungen von OPITZ und LOESER steht.

Die anschließenden Versuche mit den Substanzen F- 396 und H- 475 -H -1000 erbrachten ähnliche Ergebnisse.

F - 396 zeigte bei niedrigen Dosen (zwischen 5 - 30 μ /ml) keine Wirkung auf die NFS-Freisetzung. Erst höhere Dosen bei Versuchen, bei denen die Lipolyse durch Adrenalin gesteigert wurde, zeigten eine deutliche Hemmung dieser Lipolyse. (Tab. 4 - 6).

Die übrigen Substanzen zeigten bei niedrigen Dosen weder auf den NFS- noch auf den Glyzerinspiegel einen Einfluß. Höhere Dosen (ab 100 μ /ml) führten immer zu einer Senkung. (Tab. 7 - 9). Nur bei H- 1000 fand sich eine geringe Erhöhung der NFS- und Glyzerinkonzentration. Damit hat sich die Annahme, diese Appetitzügler wirkten direkt über eine Steigerung der Lipolyse, am isolierten Fettgewebe in vitro nicht bestätigen lassen.

Allerdings wurden für diese Versuche sehr hohe Substanzdosen verwendet, die bis zu tausendfach über den therapeutischen Wirkungsspiegeln liegen. (Preludin z. B. findet nur in Dosen von 1 - 5 μ /ml therapeutische Anwendung.) Damit sind diese in vitro gefundenen Ergebnisse nicht ohne weiteres auf in-vivo-Verhältnisse anwendbar.

Bei den B i g u a n i d - Versuchen fand sich nach der Inkubation in jedem Fettgewebsleerwert vor Biguanidzusatz ein höherer Glyzeringehalt im Puffermedium als im Pufferleerwert. Es wurde also während des Versuches Glyzerin infolge Triglyzerinhydrolyse im Fettgewebe an das Puffermedium abgegeben. Unter Wirkung von Phenformin lag die im

Inkubationsmedium nach Versuchsende gemessene Glycerinkonzentration ab Dosen $15 \mu\text{ml}$ deutlich niedriger.

Unter Wirkung von Buformin (DBV) erfolgte diese Minderung des Glycerinspiegels schon ab Dosen von $5 \mu\text{ml}$.

Das kann nur auf eine Hemmung der Lipolyse zurückgeführt werden. Mit steigenden Dosen sank bei beiden verwandten Biguaniden der Glycerinspiegel des Puffers ungefähr linear dosisabhängig ab. (Tab. 15, Abb. 9, Tab. 26, Abb. 17, 18). Die NFS nahmen im Leerversuch gegenüber dem Pufferleerwert in den meisten Fällen gering ab. Dabei wurden bilanzmäßig NFS aus dem Puffermedium ins Fettgewebe aufgenommen. Da die korrespondierenden Glycerinwerte jeweils stark positiv waren, kann hieraus gefolgert werden, daß unter den herrschenden Versuchsbedingungen (Glukose im Puffer!) neben der Lipolyse mit Freigabe von NFS und Glycerin gleichzeitig eine Neubildung von Fett mit Reesterifikation der NFS zu Triglyzeriden erfolgte. Da im Leerversuch die Fettbildung größer als die Lipolyse ist, ergibt sich somit gegen Versuchsende eine negative NFS-Bilanz.

Diese negative Bilanz nimmt beim Biguanidzusatz zum Puffermedium zu. (In der Meßapparatur nur durch Zusatz von lipolytischen Hormonen sichtbar zu machen!) (Tab. 15, 16). Unter hypothetischer Voraussetzung einer konstanten Reesterifikationsrate ist die Zunahme der negativen NFS-Bilanz nur mit einer Abnahme der Lipolyserate zu erklären. (Rein spekulative Annahme).

Da nach DAWECKE et.al. (13) sowie L'AGE et.al. (15) unter Biguanid die Glukoseaufnahme gefördert wird, könnte auch eine Zunahme der Reesterifikation erfolgen. Damit hätten die Biguanide eine insulinähnliche Wirkung. (Hemmung der Lipolyse und Förderung der Lipogenese aus Glukose.)

Abweichend von Buformin zeigte sich bei Phenformin im Dosisbereich unter $10 \mu\text{ml}$ bei zwei von drei Versuchen eine geringe Zunahme der Glycerin-Freisetzung über den Kontrollwert hinaus, die knapp außerhalb der Fehlerbreite der Methode lag. (Tab. 10b,c). Bei einem von drei Versuchen kam es bis $30 \mu\text{ml}$ zu einer vermehrten Freisetzung von NFS,

was als Steigerung der Lipolyse zu deuten ist. Mit steigenden Dosen Phenformin (5 - 250 μ /ml) fand sich eine ungefähr proportionale Zunahme des Netto-Gasaustauschs. Lediglich bei 5 μ /ml zeigte sich eine geringe Verminderung. (Tab.21,22,Abb.13). Da bei den hohen Biguaniddosen vermutlich eine Atmungsdepression auftritt, ist die Steigerung des Netto-Gasaustausches wohl auf ein Sistieren des O_2 -Verbrauchs und dabei zunehmender CO_2 -Produktion zurückzuführen.

In weiteren Versuchen wurden dem Inkubationsmedium konstante Mengen Adrenalin, Noradrenalin, ACTH und STH zugesetzt und die Biguanidkonzentration von 5 - 500 μ /ml variiert. Wie zu erwarten, zeigte sich in den Leerwertkontrollen eine starke Steigerung der Lipolyse. Nach Biguanidzusatz fand sich mit steigenden Konzentrationen eine Abnahme der NFS- und Glyzerinwerte, d.h. eine Hemmung der durch die genannten Hormone aktivierten Lipolyse. Bei einigen Versuchen (ACTH + Buformin, Adrenalin + DBI) kam es zu einem isolierten Anstieg der NFS bei 10 μ /ml (-40 μ /ml), der bei höheren Dosen abfiel.

Die am isolierten Fettgewebe durchgeführten Versuche sprechen somit für eine dosisabhängige Hemmung der Lipolyse durch Biguanide. Diese Hemmung der Lipolyse war sowohl ohne als auch nach Aktivierung der Lipolyse durch Hormone zu beobachten.

Nun waren bei diesen Versuchen ähnlich denen mit Appetitzüglern sehr hohe Substanzdosen nötig, um überhaupt Effekte am Stoffwechsel der Fettzelle zu zeigen. Da Biguanide ebenfalls nur in viel niedrigeren Dosen therapeutisch anwendbar sind, lassen sich auch diese in vitro gewonnenen Ergebnisse nicht ohne weiteres auf in-vivo-Verhältnisse übertragen. Sicher ist, daß die verwendeten Biguanide keine verstärkte Lipolyse verursachen, wie vermutet wurde, sondern in hohen Dosen lipolysehemmend wirken.

Somit kann man auf Grund der bisher bekannten Befunde und dieser neuen Ergebnisse folgende Arbeitshypothese über den Wirkungsmechanismus der Biguanide in Erwägung ziehen:

1. sie senken den erhöhten Blutzucker;
2. sie wirken nicht beim normalen Blutzuckerspiegel;
3. sie fördern die Glukoseaufnahme ins Gewebe;
4. sie wirken nur in Anwesenheit wenigstens geringer Mengen endogenen oder exogenen Insulins;
5. sie hemmen in hohen Dosen die Lipolyse;
6. sie senken beim Adipösen den erhöhten Insulinspiegel (25);
7. sie werden beim übergewichtigen Altersdiabetiker empfohlen.

Ferner: a) Ein erhöhter NFS-Spiegel hemmt die Insulinwirkung am Muskel;
b) Diabetiker und Adipöse haben erhöhte NFS-Spiegel und Serum-Insulinkonzentrationen.

Damit könnte man die Biguanidwirkung so erklären: Biguanide hemmen die NFS-Freisetzung. Der NFS-Spiegel sinkt, so daß das noch vorhandene endogene Insulin besser wirksam wird. Also sinkt auch der erhöhte Blutzuckerspiegel.

Als Beispiel kämen der Altersdiabetiker und der Adipöse in Betracht, die beide einen erhöhten Blutzuckerspiegel, erhöhte NFS-Werte und Insulinspiegel haben. Wenn also die Biguanide den NFS-Spiegel senken, damit das Insulin potenzieren und die Glukosepermeabilität im Muskel erhöhen, wäre damit die Normalisierung des Stoffwechsels zu erklären. Dafür spricht auch, daß beim Gesunden, der einen optimalen Insulinspiegel aufweist, dieser Effekt mit Biguaniden nicht mehr gesteigert werden kann.

ZUSAMMENFASSUNG

In in-vitro-Versuchen wurde eine Reihe von als Appetitzügler bekannten Substanzen wie Preludin, F - 396 und H 475 - H 1000 zusammen mit isoliertem Ratten-Nebenhodentfettgewebe inkubiert und ihre Wirkung auf die Lipolyse in der Fettzelle untersucht. Als Parameter für die Lipolyserate dienten die NFS-(Nichtveresterte Fettsäuren) Spiegel und die des Glyzerins. Entgegen aus in-vivo-

Versuchen resultierenden Vermutungen, diese Stoffe wirkten aktivierend auf die Lipolyse, zeigten die vorliegenden Versuchsergebnisse bei niedrigen Dosen keine sichtbare Wirkung auf die Lipolyse, bei höheren Dosen von 100 μ /ml und mehr eine Hemmung der Lipolyserate. Damit läßt sich die Vermutung, daß diese Appetitzügler, die in vivo zu einer Gewichtsabnahme der Versuchstiere führten, diese Wirkung über eine Steigerung der Lipolyse in der Fettzelle erzielen, in vitro nicht bestätigen.

Gleichartige Versuche mit Biguaniden, die heute z.T. erfolgreich bei übergewichtigen Altersdiabetikern Anwendung finden und bei diesen zu einer Gewichtsabnahme führen sollen, zeigten ähnliche Ergebnisse: Ungefähr linear dosisabhängig führten die verwandten Biguanide Phenformin und Buformin zu einer Hemmung der Lipolyse des Fettgewebes, zeigten somit eine insulinähnliche Wirkung.

Zu klären bleibt, ob diese Wirkung in einer direkten Potenzierung des noch vorhandenen Insulins zu sehen ist, oder in einer Senkung des pathologisch hohen NFS-Spiegels, was die Glukosepermeabilität der Muskelzelle verbessert. Der antilipolytische Effekt würde die Normalisierung der Stoffwechsellage beim Altersdiabetiker klären, da durch Potenzierung der Insulinwirkung, durch den Abfall des NFS-Spiegels und die Erhöhung der Glukosepermeabilität im Muskelgewebe ja der Glukosespiegel im Blut absinken müßte.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BEHREND, W. A. und R. DEININGER: Zur Pharmakologie des 2-Phenyl-3-methyl-butylamin, einer Substanz mit anorexigener Wirkung. Arzneimittelforsch. 13, 711 - 716, 1963
2. OPITZ, K. und LOESER, A.: Über den Einfluß appetithemmender Substanzen auf das Fettgewebe. Klin. Woch.schr. 41, 193 - 196, 1963
3. HOHN, T., I. HUUS, L. KOPF, I. MOELLER-NIELSEN und P.W. PETERSEN: Pharmacology of a series of nuclear substituted phenyltertiary butylamines with particular reference to anorexigen and central stimulating properties. Acta Pharmac. (Kbh.) 17, 121, 1960
4. JEANRENAUD, B.: Dynamic aspects of adipose tissue metabolism: a review. Metabolism 10, 535-581, 1961
5. PROSKE, G., OSTERLOH, G., R. BECKMANN, F. LAGLER, G. MICHAEL und H. MÜCHTER: Tierexperimentelle Untersuchungen mit blutzuckerwirksamen Biguaniden. Arzneimittelforsch. 12, 314, 1962
6. LIPPMANN, H. G.: Zur peroralen Behandlung des Diabetes mellitus mit Guanidinderivaten. Dtsch.Z. Verdau.- u. Stoffw.krht. 22, 56, 1962
7. SÖLING, H.D., H. WERCHAU und W. CREUTZFELD: Untersuchungen zur Stoffwechselwirkung von blutzuckersenkenden Biguaniden bei verschiedenen Tierespezies. Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp. Patholog.Pharmak. 244, 290, 1963
8. WICK, A.N., E. K. LARSSON und G. S. SERIF: A site of action of phenethylbiguanide (PEBG). I. biol. Chemie 233, 296, 1958
9. STEINER, D.F. und R.H. WILLIAMS: Respiratory inhibition and hypoglycemia by biguanides and decamethylendiguanidine. Biochim.biophys.Acta (Anast.) 30, 329, 1958
10. KRUGER, F.H., T.G. SKILLMANN, G. J. HAMWI, R.C. GRUBBS, and M. DANFORTH: The mechanism of action of hypoglycemic guanidine derivatives. Diabetes 9, 170, 1960

11. MEHNERT, H.: 4^e Congrès de la Fédération internationale du Diabète - I. Genf 1961
 - a) MEHNERT, H., E. MAHRHOFER und G. STERN: Zur Anwendung einer Retardform des Butylbiguanid in der Diabetes-therapie. Dtsch.Med. W.schr. 90, 1316, 1965
 - b) SÖLING-CREUTZFELD, H.D.: Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde: Orale Diabetestherapie und ihre experim. Grundlagen. Springer-Verlag
12. TRANQUADA, R.: The mechanism of action of phenetylbiguanid (PEBG). 4^e Congrès de la Fédération Internationale du Diabète - I. Genf 1961 - Edition Medicine et Hygiene pp. 716 - 717
13. DAWEKE, H. und J. BACH: Experimental studies on the mode of action of biguanides. Metabolism 12, 319 - 1963
14. TRANQUADA, K. E.: In vitro metabolic studies with DBI on rat diaphragma and adipose tissue. Clin. Res. Proc. 10, 90 - 1962
15. L'AGE, M., J. STEHR und P. WAHL: Der Einfluß von N₁-n-Butylbiguanid auf das Verhalten der NFS bei Normalpersonen und Diabetikern und am epididymalen Fettgewebe der Ratte. Klin. W.schr. 41, 659 - 1963
16. SCHLESS, G.L.: Nonesterified fatty acids as a metabolic substrate. The Rapid-Turnover Theory. Metabolism 13, 934 - 1964
17. DITSCHUNEIT, H. und F. HOFF: New Istanbul Contr.clin. sci. 7, 106 - 1964
18. WHICHELOW, M. J., W. J. BUTTERFIELD und M. E. ABRAMS: Zum Wirkungsmechanismus der Biguanide. Vortrag auf dem 5. Kongress der intern. Diabetesvereinigung Toronto 1964 - Dtsch.Med.Wschr. 90, 1589 - 1965
19. CREUTZFELD, W., U. DEUTICKE und H. D. SÖLING: Potenzierung der Wirkung von exogenem Insulin durch N(4-Methylbenzolsulfonyl)-N-butyl-carbamid und N- n-Butylbiguanid beim eviscerierten Tier. Klin.W.schr. 39, 790 - 1961
20. LIPPMANN, H.G. und J. LAWECKI: Die Wirkung von N₁-n-butylbiguanid (H 224) auf den Blutglukosespiegel des stoffwechselgesunden Kaninchens. Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path. Pharmak. 245, 440 - 1963

21. BUTTERFIELD, W. J. H. and M. J. WHICHELOW: The hypoglycemic action of phenformin. Effect of phenformin on glucose-metabolism in peripheral tissues. *Diabetes* 11, 281 - 1962
22. STUHLFAUTH, K., H. MEHNERT und G. KALLAMPETSOS: Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Sulfonylharnstoffe. *Klin. W.schr.* 38, 277 - 1960
23. MEHNERT, H.: Experimentelle und klinische Untersuchungen mit oralen Antidiabetica vom Typ der Biguanide. *Fortschr. Med.* 82, 277 - 1964
24. v. BRAND, V.: Die Wirkung von Phenyl-äthylbiguanid auf den Fettstoffwechsel der Leber. *Arzneimittelforsch.* 11, 739 - 1961
25. GRODSKY, G.M., J.H. KARAM, F.C. PAVLATOS and P.H. FORSHAM: Reduction by phenformin of excessive insulin levels after glucose loading in obese and diabetic subjects. *Metabolism* 12, 278 - 1963
26. SADOW, H.S.: A fundamental approach to hypoglycemic therapy. *Metabolism* 12:4, 333 - 345 - 1963
27. SCHWARTZ, M.J., St. MIRSKY and L. E. SCHAEFER: Phenformin, Serum lipids and Diabetes Mellitus. *Lancet* 1965 /I - 959
28. PATEL, D.B. and J. M. STOWERS: Phenformin in weight reduction of obese diabetics. *Lancet* II -282- 1964.
29. MOSS, J.M.: Comparative evaluation of tolbutamid, chlorpropamid and phenformin. *Med. Tms. (N.Y.)* 92, 645 - 1964
30. PEDERSEN, J.: Phenformin in weight reduction of obese diabetics.
31. WILLIAMS, R.H.: *Textbook of Endocrinology* (Philadelphia) 1962
32. WELLER, Ch.: Phenformin in weight reduction of obese diabetics. *Lancet* 1965 /I - 53
33. CLARKE, B.F. and L.J.P. DUNCAN: Combined metformin-chlorpropamid therapy in 108 diabetic sulfonylurea-failures. *Lancet* 1965/I - 1248
34. BRADLEY, K.F. and KRALL, L.P.: Long-term phenformin-therapy for diabetes with emphasis on the older patient. *Diabetes* 11, Suppl. 88 1962

35. WEINGES, K.F., K.SCHWARZ, P.EYMER und K.KOPETZ:
Der Einfluß von STH, ACTH, Adrenalin und
Cortisol auf die Produktion von Nicht-
veresterten Fettsäuren und Glyzerin vom
Fettgewebe in vitro. Sonderdruck 8.Sympos.
d.Dtsch.Ges. für Endokrinologie München -
1961 - Gewebs- und Neurohormone, Physiolog.
d. Melanophorenhormone. 382 - 386
36. DOLE, V.P. und MEINERTZ, H.: Microdetermination of
longchain fatty acids in plasma and tissues.
J.biol.Chem. 235, 2595 - 1960
37. KREUTZ, F.H.: Enzymatische Glyzerinbestimmung.
Klin.W.schr. 40 /7 - 362 - 1962
38. STERN, I. and B.SHAPIRO: The transport of lipids into
adipose tissue. Metabolism Clin.exptl. 3, 539
1954
39. RODBELL, M.: The removal and metabolism of chylomikrons
by adipose tissue in vitro. J.Biol.Chem. 235,
1613 - 1960
40. ROSE, G. and SHAPIRO, B.: Enzyme systems in adipose
tissue participating in fatty acid esterifi-
cation. Bull.Res.Council Israel 9A, 15 -
1960
41. BEZMAN, A., J.M.FELTS and R.J.HAVEL: The incorporation
of triglycerid fatty acid into adipose tis-
sue as a function of lipoprotein-lipase
activity. Cli.Res. 10, 84 - 1962
42. MARKSCHEID, L. and E.SHAFRIR: Assimilation of Lipo-
protein triglycerid in vitro: comparison
of various adipose tissues and lipopro-
teins and effect of lipoprotein lipase
inhibitors. Israel J.Chem. 1, 205 - 1963
43. SHAPIRO, B. and G.ROSE: Synthesis of glycogen and
fatty acids in adipose tissue. Intern Congr.
Biochem. 3rd 1955

44. SHAPIRO, B., I. CHOWERS and G. ROSE: Fatty acids uptake and esterification in adipose tissue. *Biochim. Biophys. Acta* 23, 115 - 1957
45. EALLY, B. R., G. F. CAHILL and B. LEBOEUF: Studies on rat adipose tissue in vitro. v. Effects of glucose and insulin on the metabolism of palmitate-1-C¹⁴. *J. Biol. Chem.* 235, 333 - 1960
46. KERPEL, S., E. SHAFRIR and B. SHAPIRO: Mechanism of fatty acid assimilation in adipose tissue. *Biochim. Biophys. Acta* 46, 495 - 1961
47. RABEN, M. S. and C. H. HOLLENEBERG: Uptake and release of fatty acids by adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 38, 1032 - 1959
48. RABEN, M. S. and C. H. HOLLENEBERG: Effect of glucose and insulin on the esterification of fatty acids by isolated adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 39, 435 - 1960
49. REICHL, D., and V. FELT: The effect of glucose on fatty acid transport. Changes in unesterified fatty acid levels in adipose tissue. *Physiol. Brhemoslov* 10, 50 - 1961
50. SHAPIRO, E., D. WEISSMANN, V. BENTOR and E. WERTHEIMER: Uptake of fat by adipose tissue in vitro. *Metab. Clin. Exptl.* 1, 396 - 1952
51. MILSTEIN, S. W. and L. H. DRISCOLL: Oxidation of albuminbound palmitate-1-C¹⁴ by adipose tissue and hepatic tissues of the rat. *J. Biol. Chem.* 234, 19 - 1959
52. VAUGHAM, M.: The metabolism of adipose tissue in vitro: *J. Lipid. Res.* 2, 293 - 1961
53. STEIN, Y. and O. STEIN: The incorporation and disappearance of fatty acids in the rat epididymal fat pad studied by the in-vivo-incubation technique. *Biochim. Biophys. Acta* 60, 58 - 1962

54. HIRSCH, J.: Composition of adipose tissue. In: Adipose Tissue as an Organ, edited by L. W. Kinsell. Springfield, Ill.: C. C. Thomas pp. 79,81,89 1962
55. WINEGRAD, A.J.: Adipose Tissue as an Organ. Proc.Denel Conf. on Lipids, edited by L.W.Kinsell, Springfield, Ill. C.C. Thomas p.58 -1962
56. WINEGRAD, A.I. and A.E. RENOLD: Studies on rat adipose tissue in vitro: Effects of insulin on the metabolism of glukose, pyruvat and acetat. J. Biol. Chem. 233, 257 - 1958
57. CAHILL, G.F., B. JEANRENAUD, B. LEBOEUF and A.E.RENOD: Effects of insulin on adipose tissue. Ann. N.Y.Ac.ad. Sci. 82, 403 - 1959
58. LEONARDS, J.R. and B. R. LANDAU: A study of the equivalence of the metabolic patterns in rat adipose tissue: Insulin versus glukose concentration. Arch. Biochem. Biophys. 91, 194 - 1960
59. JEANRENAUD, B. and A. E. RENOLD: Studies on rat adipose tissue in vitro. IV. Metabolic patterns in rat adipose tissue, produced by varying insulin and glukose concentrations independently from each other. J. Biol. Chem. 234, 3082 - 1959
60. WEISS, S. B. and E. P. KENNEDY: The encymatic synthesis of triglycerides. J. Am. Chem. Soc. 78, 3550 - 1956
61. TIETZ, A. and B. SHAPIRO: The synthesis of glycerides in liverhomogenates. Biochim. Biophys.Acta 19, 374 - 1956
62. STEIN, Y. and B. SHAPIRO: The synthesis of neutral glycerides by fractions of rat liver homogenates. Biochi. Biophys. Acta 24, 197 - 1957
63. SHAPIRO, B. : The synthesis of fatty acids and glycogen by adipose tissue in vitro.Biochim.Biophys. Acta 18, 504 - 1955

64. STEINBERG, D. M. VAUGHAM and S. MARGOLIS: Studies of triglycerid biosynthesis in homogenates of adipose tissue. J. Biol. Chem. 236, 1631 - 1961
65. GOLDMAN, P. and R. P. VAGELOS: The specificity of triglyceridsynthesis from diglycerides in chicken adipose tissue. J. Biol. Chem. 236, 2620 - 1961
66. DI COSTANZO, P.: In vitro study of adipose tissue incorporation of labeled palmitic acid; influence of insulin and adrenalin. Acad. Sci. 254, 3576 - 1962
67. SMITH, S. W., S. B. WEISS and E. P. KENNEDY: The enzymatic de-phosphorylation of phosphatidic acids. J. Biol. Chem. 237, 44 - 1962
68. MARGOLIS, S. and M. VAUGHAM: =Glycerophosphate synthesis and breakdown in homogenates of adipose tissue. J. Biol. Chem. 237, 44 - 1962
69. LYNN, W. S. and N. S. PERRYMAN: Properties and purification of adipose tissue lipase. J. Biol. Chem. 235, 1912 - 1960
- 70 CAHILL, G. F., Jr., B. LEBOEUF and A. E. RENOLD: The role of glycerol in hormonal effects of fat-metabolism. Acta endocrin. 35, 941 - Suppl 51 1960
71. WIELAND, O. and M. SUYTER: Glycerokinase, isolation and properties. Biochem. Z.schr. 329, 320 - 1957
72. SHAPIRO, B., M. STATTER and G. ROSE: Pathways of triglyceridformation in adipose tissue. Biochim. Biophys. Acta 44, 373 - 1960
73. RESHEF, L., E. SHAPRIR and B. SHAPIRO: In vitro release of unesterified fatty acids by adipose tissue. Metab.Clin. Exptl. 7, 723 - 1958

74. RESHEF, L. and B. SHAPIRO: An acceptor for fatty acids in tissue particles. *Biochim. Biophys. Acta* 64, 578 - 1962
75. SHAPIRO, B.: Lipid dynamics in adipose tissue. In: *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids. Vol. IV-N.Y. Pergamon Press* p 177 - 1957
76. CHERKES, A. and R. S. GORDON: The liberation of lipoproteinlipase by heparin from adipose tissue incubated in vitro. *J. Lipid Res.* 1, 97 - 1959
77. LEBOEUF, B., R. B. FLINN and G. F. CAHILL Jr: Effect of epinephrine on glucose uptake and glycerol-release by adipose tissue in vitro. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 102, 527 - 1959
78. SHAFRIR, E.: Release of glycerol during mobilisation of unesterified fatty acids from adipose tissue. *Bull. Res. Council Israel* sect.A: 90 - 1960
79. VAUGHAM, M.: The production and release of glycerol by adipose tissue incubated in vitro. *J. Biol. Chem.* 237, 3354 - 1962
80. VAUGHAM, M. and D. STEINBERG: Glyceride biosynthesis, glyceride breakdown and glycogen breakdown in adipose tissue: mechanism and regulation. *Handbook of Physiology: Sec. 5, Adip. Tissue* 239 - 1965
81. HOLLENBERG, C. H., M. S. RABEN and E. B. ASTWOOD: The lipolytic response to corticotropin. *Endocrinology* 68, 589 - 1961
82. RIZACK, M.A.: An epinephrin sensitiv lipolytic activity in adipose tissue. *J. Biol. Chem.* 236, 657 - 1961
83. MOSINGER, B., WENKEOVA and T. BRAUN: A study of the mobilisation of fat from adipose tissue. *Acta Inst. Nutr. Hum. Prag* 3, 107 - 1961

84. VAUGHAM, M., J. E. BERGER and D. STEINBERG: Hormon-sensitive lipase and monoglyceridlipase activities in adipose tissues. J. Biol. Chem. 239, 401 - 1964
85. VAUGHAM, M.: The production and release of glycerol by adipose tissue incubated in vitro. J. Biol. Chem. 237, 3354 - 1962
86. KUJALOWA, V., B. MOSINGER and Z. LOJDA: On the relationship between lipolytic activity of adrenaline and corticotrophin, ATP-ase and hexokinase activity of adipose tissue. Cesk. Fysiol. 11, 454 - 1962
87. BJÖRNTROP, P. and R. H. FURMAN: Lipolytic activity in rat epididymal fat pads. Am. J. Physiol. 203, 316 - 323 - 1962
88. RABEN, M. S.: Regulation of fatty acid release with particular reference to pituitary factors. Handbook of Physiol. Sec. 5, Adip. Tissue 331 - 1965
89. STEINBERG, D. and M. VAUGHAM: Release of free fatty acids from adipose tissue in vitro in relation to triglyceride synthesis and degradation. Handbook of Physiol. Sec. 5, Adip. Tissue 335 - 1965
90. GORDON, R. S. Jr. and A. CHERKES: Production of un-esterified fatty acids from isolated rat adipose tissue incubated in vitro. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 97, 150 - 1958
91. LEBOUF, B. and G. F. CAHILL: Studies on rat adipose tissue in vitro. VIII: Effect of preparations of pituitary adrenocorticotrophic and growth hormones on glukosmetabolism.
92. MASLBURN, L., K. BROWN and W. S. LYNN: Liberation and stimulation of adipose tissue lipase. Federation Proc. 19, 224 - 1960

93. LÖFFLER, G. und K.F.WEINGES: Vergleichende Untersuchungen über die hormonelle Beeinflussung der Lipase und Phosphorylase in vitro. Klin.W.schr. 1966 - 18 - 1085
94. WEINGES, K.F. und G.LÖFFLER: Glukagonempfindlichkeit der lipolytischen Aktivität im Fettgewebe. Kli.W.schr. 43, 175 - 1965
95. BROWN, D.H. and C.F.CORI: In: The enzymes - Ed. P.L.BOYER, H.A.LARDY and K.MYRBACK, 2nd ed., vol.5, pp 207 - 228. N.Y. Academ.Press.Inc. 1961
96. LOPEZ, E., J.E.WHITE and F.L.ENGEL: Contrasting requirements for the lipolytic action of corticotropin and epinephrin on adipose tissue in vitro. J.Biol.Chem. 234 2254 - 1959
97. HOLLENBERG, C.H. and D.E.DOUGLAS: Effect of adrenalin, corticotrophin, fasting, and diabetes on the composition of the long-chain fatty acids of rat epididymal fat. Nature 193, 1074 - 1962

LEBENS LAUF

Ich wurde am 26. März 1940 als Sohn des Diplomingenieurs Dr. Josef R e b h a n und seiner Frau Berti Rebhan, geb. Zimmermann, in Nürnberg geboren. Von 1946 - 1950 besuchte ich in Fürth die Volksschule und trat, nach einem zweijährigen Aufenthalt in einem Internat in Windsbach (Mittelfranken), wieder in Fürth in das dortige Humanistische Gymnasium ein. Nach im Sommer 1960 bestandenen Abitur begann ich mein Medizinisches Studium an der Universität in Erlangen, wo ich 1961 das Vorphysikum und 1963 das Physikum ablegte. Nach einem klinischen Semester in Erlangen siedelte ich nach München um und bestand im Dezember 1966 an der dortigen Universität das Medizinische Staatsexamen.

